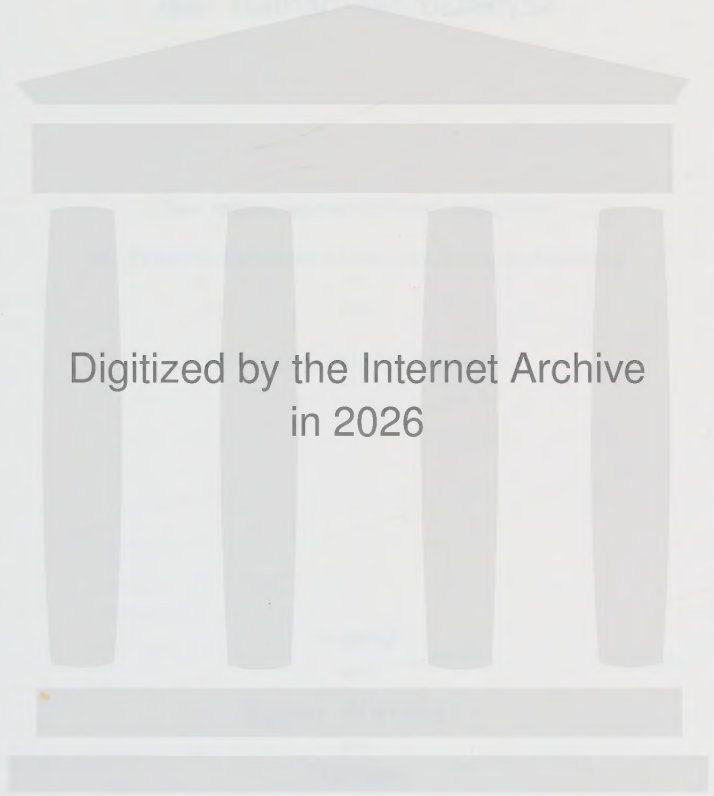


Untersuchung der Stabilität
von Implantatwerkstoffen mit Hilfe
der Raman-Mikroanalyse

von
Eugen Weimer
aus
Tübingen

Diss.
Erlangen
1904



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Untersuchung der Stabilität von Implantatwerkstoffen mit Hilfe der Raman-Mikroanalyse

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt

von

Eugen Weimer

aus

Tübingen

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen
Fakultäten der Universität Erlangen - Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 5.11.1984

Vorsitzender der

Promotionskommission: Professor Dr. K. Brodersen

Erstberichterstatter: Professor Dr.-Ing. M. Schaldach

Zweitberichterstatter: Professor Dr. G. Ritter
Professor Dr.-Ing. G. Müller

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
1. Einleitung und Aufgabenstellung	3
2. Grundlagen	5
2.1 Grundlagen der Schwingungsspektroskopie	5
2.1.1 Infrarotspektroskopie	6
2.1.2 Ramanspektroskopie	7
2.1.3 Ramanmikroanalyse	19
2.1.4 Aussagemöglichkeiten der Ramanspektroskopie	21
2.2 Polymere als Implantatwerkstoffe	23
2.2.1 Blutverträglichkeit	24
2.2.2 Biologischer Abbau	24
3. Diskussion des Versuchsaufbaues	28
3.1 Aufbau des Meßsystems	29
3.2 Registrierung von Ramanspektren	36
3.3 Registrierung von Ramanverteilungsbildern	38
4. Grundlegende Untersuchungen und Experimente	41
4.1 Empfindlichkeit des Meßverfahrens	41
4.2 Geometrische Auflösung des Meßverfahrens	45
4.2.1 Fokussierung ebener Wellen	46
4.2.2 Fokussierung von Laserstrahlung	47
4.3 Thermische Belastung der Proben	51
4.3.1 Voraussetzungen und Grundlagen	51
4.3.2 Stationäre Objektbestrahlung	53
4.3.3 Sequentielles Abtasten des Objektes	56

4.4.	Maßnahmen zur Reduzierung von Hintergrundstrahlung	58
4.4.1	Streulicht aus dem Meßsystem	58
4.4.2	Streulicht aus der Probe	59
5.	Meßergebnisse und Diskussion	64
5.1	β -Carotin	64
5.2	Verunreinigungen	66
5.3	Polyethylen	68
5.4	Polyurethan	75
6.	Ausblick	89
7.	Zusammenfassung	95
8.	Literatur	98
	Verwendete Symbole	104

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Das Interesse an analytischen Meßverfahren zur Beurteilung der Langzeitstabilität von Implantatwerkstoffen ist in den letzten Jahren stark gestiegen. Eine erhöhte Nachfrage nach einer Organunterstützung oder einem vollwertigen Organersatz führte zur Entwicklung und Verbesserung von Rehabilitationshilfen wie künstlichen Herzschrittmachern, Gefäß- und Gelenkprothesen. Die dabei verwendeten Materialien dürfen nicht toxisch wirken, keine Fremdkörperreaktionen auslösen, nicht von Körperflüssigkeiten angegriffen werden und nicht thrombogen wirken.

Im langfristigen Einsatz dieser Systeme wurde festgestellt, daß die Materialeigenschaften verschiedener Polymere verändert werden und die Ersatzfunktion nicht mehr gewährleistet ist /1/. Dies erfordert die Entwicklung von Analyseverfahren, die in der Lage sind, die Implantate vorab zuverlässig zu prüfen und geeignete Kenn- und Prüfdaten zu ermitteln. Von besonderer Bedeutung ist dabei eine einheitliche Bestimmung der technisch-physikalischen Materialeigenschaften und der Stabilität der Materialien bezüglich der am Implantat ablaufenden Prozesse wie Korrosion und Degradation.

Bei der Entwicklung und Prüfung von Implantatwerkstoffen werden bisher mechanische Eigenschaften wie Zugfestigkeit, Dauerschwingfestigkeit, Streckgrenze, Bruchdehnung und Verschleißfestigkeit sowie die Morphologie der Oberflächen ermittelt /2/. Für analytische Aussagen wird vorwiegend die Röntgenmikroanalyse eingesetzt, welche eine Bestimmung der in der Probe enthaltenen Elemente ermöglicht. Zur Beurteilung von Polymeren kann auch das mittlere Molekulargewicht der Proben herangezogen werden.

Die beschriebenen Meßverfahren liefern Aussagen über die Mittelwerte der Eigenschaften großer Probenbereiche. Es muß jedoch davon ausgegangen werden, daß besonders bei Polymeren Veränderungen an bestimmten strukturellen Einheiten stattfinden. Zur Beurteilung derartiger Vorgänge können bevorzugt schwingungsspektroskopische Meßverfahren eingesetzt werden, denn diese liefern Informationen über die molekulare Zusammensetzung und Struktur der Proben.

Durch die Entwicklung von monochromatischen Laserlichtquellen sind in den letzten Jahren die Voraussetzungen für einen Einsatz der Ramanspektroskopie in der Mikroanalytik geschaffen worden. Infolge der optischen Abbildungsmöglichkeiten gewährleistet dieses Meßverfahren eine exakte Zuordnung der Meßwerte zu bestimmten Probenbereichen und es bietet den Vorteil, daß die Proben ohne spezifische Aufbereitung und annähernd zerstörungsfrei untersucht werden können.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, die Grundlagen für eine erfolgreiche Anwendung der Ramanspektroskopie für die Mikroanalyse von Festkörperoberflächen und zur Beurteilung der Langzeitstabilität von Implantatwerkstoffen zu erarbeiten. Das umfasst die Entwicklung eines geeigneten Meßsystems, eine Untersuchung verschiedener Randbedingungen und Störeinflüsse sowie analytische Messungen an verschiedenen Polymeren. Darüber hinaus wird untersucht, ob einzelne neue Erkenntnisse, z.B. bezüglich der Unterdrückung von Störeinflüssen oder der sequentiellen Erzeugung von Verteilungsbildern, auch bei anderen optischen Mikroanalyseverfahren zu Verbesserungen gegenüber dem bisherigen Stand der Meßtechnik führen.

2. Grundlagen

Die teilweise beobachteten Veränderungen von Implantatwerkstoffen bei der mechanischen Bearbeitung und Formgebung und im menschlichen Organismus sind stark material - abhängig. Für aussagekräftige Untersuchungen der Wechselwirkungen können deshalb nur sehr spezifische und empfindliche Messverfahren angewandt werden. Dazu gehören insbesondere die Schwingungsspektroskopischen Verfahren, die Aussagen über die Schwingungszustände von Molekülen und Kristallen liefern. Die Energien und Amplituden dieser Schwingungen werden durch die Masse und Art der Atome, deren räumliche Anordnung und die Stärke der Bindungen bestimmt /3/.

Der Vorteil des Verfahrens besteht darin, daß jede Änderung eines Parameters als Frequenz- oder Intensitätsänderung im Schwingungsspektrum erkennbar und damit direkt nachweisbar ist.

2.1 Grundlagen der Schwingungsspektroskopie

Das Schwingungsspektrum eignet sich besonders zur Identifizierung von unbekannten Substanzen und zum Nachweis von Strukturelementen anhand der Gruppenfrequenzen /4/. Diese Gruppenfrequenzen sind charakteristisch für bestimmte Atomgruppen (O-H, C-H, C=O usw.) und werden in verschiedenen Substanzen mit nahezu gleicher Frequenz und Intensität beobachtet.

Eine Anregung der Schwingungen kann durch Absorption von Strahlung und durch inelastische Streuung von Photonen erfolgen. Die Frequenz der Schwingungen ist unabhängig vom Anregungsprozeß. Von der Art des Elementarprozesses hängt es jedoch ab, ob die Schwingungen anregbar sind und mit welcher Intensität sie im Spektrum beobachtet werden können. Zur Schwingungsanregung ist eine Energie erforderlich, die der Energie von Lichtquanten im infraroten Spektralbereich ent-

spricht. Man kann deshalb die Molekülschwingungen besonders gut mit Hilfe der Infrarotabsorption beobachten.

2.1.1 Infrarotspektroskopie

Der hohe Wirkungsgrad der Infrarotabsorption ist dafür verantwortlich, daß dieses Verfahren unter den schwingungsspektroskopischen Meßverfahren bisher die größte Bedeutung besitzt.

Durchstrahlt man eine dünne Probe im infraroten Spektralbereich, so werden aus einem breiten Frequenzband diejenigen Photonen absorbiert, deren Energie $h\nu$ mit den Schwingungsenergien der Moleküle übereinstimmt (s. Abb. 2.1). Die Moleküle gehen dabei in einen angeregten Schwingungszustand über, und man beobachtet eine Absorptionsbande im Anregungsspektrum. Es ist in der Molekülspektroskopie üblich, die Lage der Absorptionsbande durch eine energieproportionale Größe, nämlich die Wellenzahl ($\tilde{\nu} = 1/\lambda \text{ (cm}^{-1}\text{)}$), zu beschreiben. Mit den Proportionalitätskonstanten h und c folgt für die Schwingungsenergien: $E = h \nu_s = h c \tilde{\nu} / 5/$.

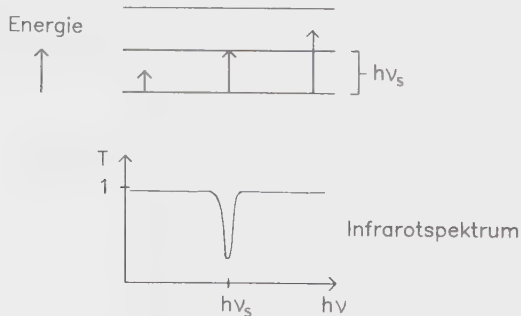


Abb. 2.1: Schematische Darstellung der Infrarotabsorption. Aus einem breiten Energieband werden diejenigen Photonen absorbiert, deren Energie mit einer Schwingungsenergie $h \cdot \nu_s$ des Moleküls übereinstimmt.

Durch Ausnutzung des Ramaneffektes, d.h. der inelastischen Streuung von Photonen der Energie $h \nu$ an Molekülen, ist es möglich, die Molekülschwingungen auch im sichtbaren Spektralbereich zu beobachten. Dies hat den Vorteil, daß der gesamte interessierende Spektralbereich mit einem einzigen Instrument registriert werden kann und die Probenaufbereitung wesentlich vereinfacht wird. Auch sind Messungen in wässriger Umgebung und in mehrkomponentigen Systemen möglich. Ein weiterer Vorteil der Ramanspektroskopie besteht darin, daß Messungen mit hoher Ortsauflösung möglich sind, wobei die Probe gleichzeitig optisch abgebildet werden kann. Die Intensität der Ramanstreuung ist bedeutend geringer als die Fluoreszenz, sodaß die Anwendbarkeit des Verfahrens bei stark absorbierenden und fluoreszierenden Proben eingeschränkt ist.

2.1.2 Ramanspektroskopie

Unter Ramanstreuung versteht man die inelastische Streuung von Photonen an Molekülen /6,7/. Bestrahlt man eine Probe mit monochromatischem Licht im sichtbaren Spektralbereich, so wird neben einer Absorption auch eine Streuung der Photonen beobachtet (s. Abb. 2.2). Eine Analyse des Streulichts zeigt, daß die Mehrzahl der Photonen die Primärenergie beibehält und elastisch gestreut wird (Rayleigh-Streuung). Bei der Wechselwirkung mit den Molekülen der Probe können die Photonen auch die Schwingungs- und Rotationsenergien der Moleküle aufnehmen oder abgeben, und man beobachtet im Streulicht einen geringen Anteil von Photonen der Energie $h \nu_0 \pm h \nu_s$ (Ramanstreuung). Das Verhältnis der Photonen der Energie $h (\nu_0 - \nu_s)$ zu den Photonen der Energie $h (\nu_0 + \nu_s)$ ist durch das Besetzungsverhältnis von Molekülgrundzustand und angeregtem Schwingungszustand gegeben und entspricht einer Boltzmannverteilung.

Zum besseren Verständnis dieser Zusammenhänge und im Hinblick auf die Interpretation der experimentellen Daten wird der Ramaneffekt zuerst mit Hilfe der klassischen Wellentheorie beschrieben.

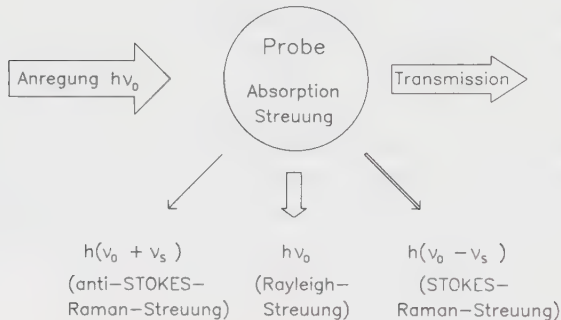


Abb. 2.2: Frequenzanteile im Streulicht bei der optischen Streuung von Licht der Energie $h\nu_0$ an Molekülen und Teilchen.

In einem elektromagnetischen Wechselfeld wird die Ladungsverteilung eines Moleküls periodisch verschoben, und es wird ein variables elektrisches Dipolmoment induziert. Bei Vernachlässigung der Wechselwirkungen der Nachbarmoleküle ist das am Molekül angreifende Feld gleich der Erregerfeldstärke $\vec{E}$ und es gilt für das induzierte Dipolmoment:

$$(2.1) \quad \vec{p} = \alpha \cdot \vec{E}$$

Die Proportionalitätskonstante ist die Polarisierbarkeit des Moleküls. Sie ist bei einem isotropen Molekül richtungsunabhängig und damit ein Skalar. Man kann sie in zwei Anteile zerlegen, nämlich einen zeitkonstanten Anteil α_0 und einen variablen Anteil, der sich mit den Normalschwingungen des Moleküls ändert. Die Normalschwingungen können sowohl Rotationen oder Schwingungen der Moleküle als auch Gitter- und Phononenschwingungen sein. Die Polarisierbarkeit kann dann in der Form

$$(2.2) \quad \alpha = \alpha_0 + \sum_n \alpha_n \cdot \cos 2\pi\nu_n \cdot t$$

angesetzt werden.

Für ein elektromagnetisches Anregungsfeld der Form

$$(2.3) \quad \vec{E} = \vec{E}_0 \cos 2\pi\nu_0 t$$

ergibt sich mit (2.1) und (2.2):

$$\begin{aligned} \vec{p} &= \vec{E}_0 \cdot \alpha_0 \cdot \cos 2\pi\nu_0 t + \vec{E}_0 \cdot \sum_n \alpha_n \cdot \cos 2\pi\nu_n t \cdot \cos 2\pi\nu_0 t \quad (2.4) \\ &= \vec{E}_0 \cdot \alpha_0 \cdot \cos 2\pi\nu_0 t + \frac{1}{2} \vec{E}_0 \sum_n \alpha_n (\cos 2\pi(\nu_0 - \nu_n)t + \cos 2\pi(\nu_0 + \nu_n)t) \end{aligned}$$

Der erste Term dieser Gleichung entspricht einer Polarisierbarkeitsänderung, die mit der Frequenz des Anregungsfeldes erfolgt. Er beschreibt die nicht frequenzverschobene Rayleighstreuung. Die variablen Komponenten der Polarisierbarkeit α_n bewirken Polarisierbarkeitsänderungen mit den Frequenzen $(\nu_0 \pm \nu_n)$ und ergeben die STOKES und anti-STOKES Ramanbanden. Nach der Hertzschen Theorie /8/ gilt für die gesamte Strahlungsleistung eines Dipols:

$$(2.5) \quad I = \frac{2}{3c^2} \left\langle \left| \frac{\delta \vec{p}}{\delta t^2} \right|^2 \right\rangle$$

Dies bedeutet, daß die Intensität der von einem schwingenden Dipol abgestrahlten elektromagnetischen Welle proportional dem zeitlichen Mittelwert der zweiten Ableitung des Dipolmomentes ist und die Frequenz der Strahlung mit der Schwingungsfrequenz des Dipols übereinstimmt. Zur Beschreibung der Winkelabhängigkeit der Polarisierung der Streustrahlung wird angenommen, daß die Polarisierbarkeit der Moleküle richtungsabhängig ist. Daraus folgt, daß die Polarisierbarkeit nicht mehr als Skalar, sondern als Tensor angesetzt werden muß.

Zerlegt man den Vektor des elektrischen Anregungsfeldes in Komponenten parallel zu den Achsen eines molekülfesten Koordinatensystems x, y, z , so folgt für die Komponenten des induzierten Dipolmomentes in Matrixschreibweise:

$$(2.6) \quad p_i = \sum_j \alpha_{ij} E_j \quad i, j = x, y, z$$

oder ausgeschrieben:

$$\begin{aligned} p_x &= \alpha_{xx} E_x + \alpha_{xy} E_y + \alpha_{xz} E_z \\ (2.7) \quad p_y &= \alpha_{yx} E_x + \alpha_{yy} E_y + \alpha_{yz} E_z \\ p_z &= \alpha_{zx} E_x + \alpha_{zy} E_y + \alpha_{zz} E_z \end{aligned}$$

Der Polarisierbarkeitstensor kann wie jeder andere Tensor in einen symmetrischen ($\alpha_{ij} = \alpha_{ji}$) und in einen antisymmetrischen ($\alpha_{ij} = -\alpha_{ji}$) Teil zerlegt werden. Dabei ist der antisymmetrische Tensor für die optische Drehung maßgebend /9/.

Der resultierende symmetrische Tensor kann für optisch nicht drehende Moleküle durch eine Koordinatentransformation soweit vereinfacht werden, daß die Elemente der Nebendiagonalen verschwinden ($\alpha_{ij} = 0$ für $i \neq j$). Es bleiben Polarisierbarkeitskomponenten $\alpha_{x'x'}$, $\alpha_{y'y'}$ und $\alpha_{z'z'}$, die anschaulich als Polarisierbarkeitsellipsoid dargestellt werden können, dessen Hauptachsen in den Hauptrichtungen des neuen Koordinatensystems liegen und das sich in Größe, Form und Orientierung während der Schwingungen verändert.

Da die Beträge der resultierenden Tensorkomponenten unterschiedlich groß sind, hängt der Polarisationsgrad der Ramanstrahlung von der Beobachtungsrichtung ab. Dies wird anhand der in Abb. 2.3 dargestellten Streugeometrie veranschaulicht.

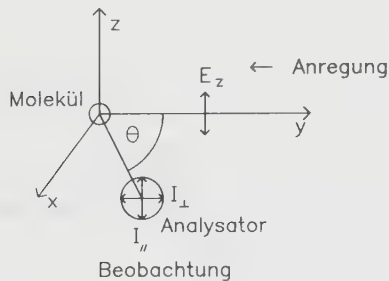


Abb. 2.3: Streugeometrie zur Bestimmung des Depolarisationsgrades und der Intensität der Ramanstrahlung.

In einem Molekül, das im raumfesten Koordinatensystem fest orientiert ist und mit in z-Richtung linear polarisierter Strahlung angeregt wird, wird ein Dipolmoment induziert, dessen Komponenten von der Beobachtungsrichtung wie folgt

abhängen:

$$\begin{aligned} p_x &= \alpha_{xz} E_z \cos\theta \\ (2.8) \quad p_y &= \alpha_{yz} E_z \sin\theta \\ p_z &= \alpha_{zz} E_z \end{aligned}$$

Nach (2.5) und (2.8) ist die unter dem Winkel θ beobachtbare Intensität proportional zu:

$$(2.9) \quad I \sim p_x^2 + p_y^2 + p_z^2 = (\alpha_{zz}^2 + \alpha_{xz}^2 \cdot \cos^2\theta + \alpha_{yz}^2 \cdot \sin^2\theta) E_z^2$$

Für statistisch verteilte Molekülorientierungen müssen die Mittelwerte der Polarisierbarkeitskomponenten durch Mittelung über alle Orientierungswinkel gebildet werden. Mit den Abkürzungen $\alpha_{x'x'} = \alpha_x$, $\alpha_{y'y'} = \alpha_y$ und $\alpha_{z'z'} = \alpha_z$ können Invarianten gegenüber Drehungen definiert werden, für die gilt /10/:

$$\begin{aligned} (2.10) \quad \bar{\alpha} &= \frac{1}{3} (\alpha_x + \alpha_y + \alpha_z) \\ \gamma^2 &= \frac{1}{2} \{ (\alpha_x - \alpha_y)^2 + (\alpha_y - \alpha_z)^2 + (\alpha_z - \alpha_x)^2 \} \end{aligned}$$

Dabei bezeichnet $\bar{\alpha}$ den kugelsymmetrischen oder isotropen Anteil der Polarisierbarkeitsänderung bei den Schwingungen und γ^2 dessen Anisotropie.

Nach einer Umformung mit zeitlicher Mittelung und Mittelung über alle Richtungen der Moleküle folgt aus den Beziehungen (2.5), (2.8) und (2.10) für die Streugeometrie nach Abb. 2.3:

$$\begin{aligned} (2.11) \quad I_{y(zz)x} &\sim \frac{45 \bar{\alpha}^2 + 4 \gamma^2}{45} \\ I_{y(zy)x} &\sim \frac{\gamma^2}{15} \end{aligned}$$

Die Nomenklatur entspricht hier einem Vorschlag von Porto /11/ und bezeichnet in der Reihenfolge der Indizierung die Einfallrichtung der Erregerstrahlung, deren Polarisationsrichtung, die Polarisationsrichtung bei der Beobachtung des Streulichtes und die Beobachtungsrichtung. Definiert man den Depolarisationsgrad der Streustrahlung durch

$$(2.12) \quad \rho_s = \frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}} = \frac{I_{y(zy)x}}{I_{y(zz)x}} \quad (\theta = 90^\circ)$$

so ergibt sich:

$$(2.13) \quad \rho_s = \frac{3 \gamma^2}{45 \alpha^2 + 4 \gamma^2}$$

ρ_s ist damit bei einer polarisierten Anregungsstrahlung unabhängig von dem in Abb. 2.3 angegebenen Beobachtungswinkel θ . Da man die Strahlung gewöhnlich mit einem in z-Richtung ausgedehnten Öffnungswinkel beobachtet, ergeben sich in der Praxis geringe Abweichungen von Gleichung (2.13).

Der Depolarisationsgrad ist ein wichtiger Meßparameter in der Ramanspektroskopie, da er Rückschlüsse auf die Symmetrie von Molekülschwingungen ermöglicht. Er hat entsprechend der Beziehung (2.13) einen Wert zwischen 0 und 3/4 für Schwingungen, die zu allen Symmetrieelementen eines Moleküls symmetrisch erfolgen und den Wert 3/4 für alle anderen Schwingungen (vollständige Depolarisation).

Beim Resonanz-Ramaneffekt kann für bestimmte Schwingungen der Tensor der Polarisierbarkeitsänderungen antisymmetrisch werden, und der Depolarisationsgrad geht gegen ∞ . In diesem Fall spricht man von inverser Polarisation.

Bei den bisherigen Ausführungen wurde vorausgesetzt, daß sich die Polarisierbarkeit bei den Schwingungen ändert (s. (2.2)). Sie hängt jedoch nicht nur von der Auslenkung der Atome bei den Schwingungen, sondern auch von der Geschwindigkeit der Atombewegungen ab. Nach Placzek /10/ ist es möglich, eine alleinige Abhängigkeit von der Auslenkung der Atome anzusetzen, falls sich die Erregerfrequenz sowohl von den Rotations- und Schwingungsfrequenzen der Moleküle im Grundzustand als auch von den Elektronenübergangsfrequenzen der Moleküle stark unterscheidet (keine Absorption). Unter diesen Bedingungen kann die Polarisierbarkeit in eine Taylorreihe in Abhängigkeit von den die Auslenkung beschreibenden Normalkoordinaten q_n entwickelt werden und man erhält:

$$(2.14) \quad \alpha_{ij}(q) = \alpha_{ij}(0) + \sum_{n=1}^{3N} \left\{ \frac{\delta \alpha_{ij}}{\delta q_n} \right\}_0 + \dots$$

Dies bedeutet, daß die Ramanstreuung nur dann stattfindet, wenn sich während einer Molekülschwingung k die Polarisierbarkeit des Moleküls ändert. Für die Intensität der beobachteten Ramanstrahlung folgt in Verbindung mit (2.4) und (2.5):

$$(2.15) \quad I \sim \left\{ \frac{\delta \alpha}{\delta q_k} \right\}_0^2$$

Höhere Terme in Gleichung (2.14) ergeben Kombinations- und Oberschwingungen zu den Grundschiwingungen. Diese sind im Ramanspektrum nur mit geringer Intensität beobachtbar.

Im Vergleich zu (2.15) erfolgt eine Absorption oder Emmission von Quanten der Schwingungsenergie einer Molekülschwingung, falls sich bei der Schwingung das Dipolmoment des Moleküls

ändert. Die Intensität der bei IR-Absorption beobachtbaren Bande ist proportional dem Quadrat der Änderung des Dipolmomentes und man erhält:

$$(2.16) \quad I \sim \left(\frac{\delta \vec{p}}{\delta q_k} \right)_0^2$$

Homonukleare 2-atomige Moleküle wie N_2 und O_2 sind IR-inaktiv. Die Valenzschwingungen dreiatomiger linearer Moleküle sind je nach Symmetriegrad beobachtbar. In Abb. 2.4 ist zu erkennen, daß sich beim CO_2 -Molekül die Polarisierbarkeit bei den symmetrischen Valenzschwingungen ändert, während das Dipolmoment konstant bleibt. Diese Schwingung ist folglich nur im Raman-spektrum beobachtbar. Bei der antisymmetrischen Valenzschwingung ändert sich vorwiegend das Dipolmoment und man kann diese Schwingung besonders gut im IR-Spektrum beobachten. Für eine umfassende Analyse und Strukturaufklärung von Substanzen werden deshalb am besten beide Verfahren kombiniert.

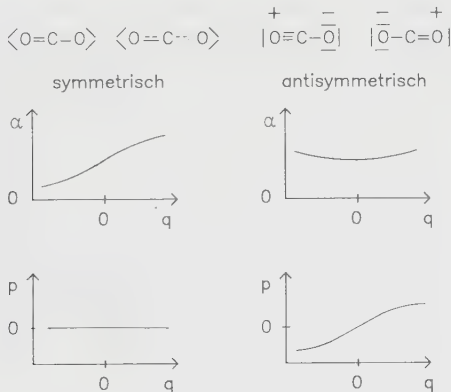


Abb. 2.4: Verlauf der Polarisierbarkeit α und des elektrischen Dipolmoments $\vec{p}$ bei der symmetrischen und antisymmetrischen Valenzschwingung des CO_2 -Moleküls. Die symmetrische Valenzschwingung ist Raman-aktiv, die antisymmetrische Valenzschwingung besonders IR-aktiv.

Die bisherige klassische Ableitung ergab eine anschauliche Beschreibung der Polarisations- und Frequenzabhängigkeit der Ramanstrahlung. Bei einer quantenmechanischen Betrachtung werden ebenfalls die diskreten Energieniveaus der Moleküle erhalten, darüber hinaus folgt aus der Übergangswahrscheinlichkeit zwischen den diskreten Zuständen auch die Intensität der Ramanstrahlung. Die Energieniveaus eines Moleküls hängen von den elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Elektronen und Atomkernen, den Elektronen untereinander, den Schwingungen zwischen den Atomen, den Molekülrotationen und den magnetischen Wechselwirkungen infolge des Elektronen- und Kernspins ab. Mit den entsprechenden Quantenzahlen e , l , J für die elektronischen Niveaus, Schwingungszustände und Rotationszustände ergibt sich für ein einfaches Molekül das in Abb. 2.5 dargestellte Energieniveauschema.

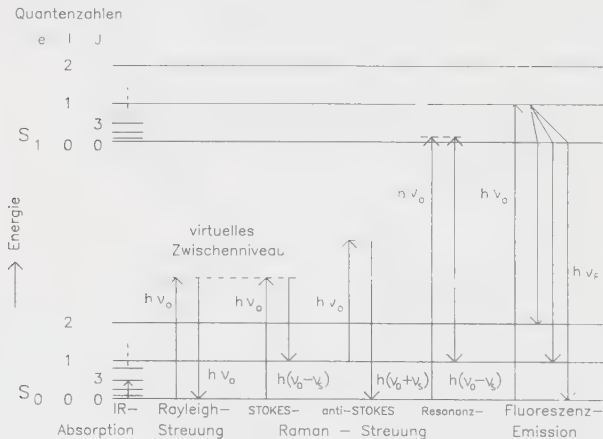


Abb. 2.5: Energieniveauschema eines einfachen Moleküls. Dar- gestellt sind der elektronische Grundzustand (Quantenzahl e) und der erste angeregte Zustand, die Schwingungsniveaus (Quantenzahl l) sowie leicht angedeutet einige Rotationsniveaus (Quantenzahl J). Bei der Anregung des Moleküls ist je nach Energiebereich eine IR-Absorption, Rayleigh-Streuung, Raman-Streuung oder Fluoreszenz- emission beobachtbar.

Der elektronische Grundzustand ($e=0$) und der erste angeregte Zustand ($e=1$) des Moleküls spalten entsprechend der Schwingungsquantenzahl l und der Rotationsquantenzahl J in energetisch verschiedene Zustände auf. Die genaue Form der Aufspaltung hängt von der relativen Größe der entsprechenden Quanten ab. Praktisch ist jedoch die Energie der Elektronenniveaus deutlich größer als die Schwingungsenergie und diese wiederum deutlich größer als die Rotationsenergie der Moleküle.

Bei der Wechselwirkung mit einem Photon der Energie $h \cdot \nu$ geht das Molekül in ein virtuelles Zwischenniveau über. Falls ein Übergang in den Grundzustand innerhalb von $\tau \approx 10^{-14} \text{ s}$ unter Aussendung eines Photons derselben Energie erfolgt, spricht man von elastischer oder Rayleigh-Streuung.

Das Molekül kann vom virtuellen Zwischenniveau jedoch auch in einen gegenüber dem Ausgangszustand höheren oder niedrigeren Schwingungszustand übergehen und man beobachtet eine inelastische oder Ramanstreuung. Der Übergang in einen energetisch tieferen Zustand und damit die Aussendung eines Photons mit höherer Energie als der Anregungsenergie ist nur möglich, wenn das Molekül vor dem Streuprozess bereits in einem angeregten Zustand war. Die Besetzungswahrscheinlichkeit eines Zustandes der Energie E bei der Temperatur T ergibt sich aus der Boltzmann-Statistik mit $W \propto \exp(-E/kT)$. Das bedeutet, daß der angeregte Zustand mit gegenüber dem Grundzustand höherer Energie auch weniger besetzt ist, sodaß STOKES-Übergänge wahrscheinlicher sind als anti-STOKES Übergänge.

Bei geeigneter Anregungsenergie kann das virtuelle Zwischenniveau in der Nähe von angeregten elektronischen Molekülzuständen liegen (s. Abb. 2.5). Infolge der Kopplung von Elektronen- und Schwingungsübergängen werden in diesem Fall auch Molekülschwingungen bevorzugt angeregt und man beobachtet eine starke Erhöhung der Rayleigh- und Ramanintensität (Resonanz-Ramaneffekt /12/). Diese Resonanzverstärkung wird bei verschiedenen Chromophoren, z.B. Karotin, Cytochrome C und Hämoglobin /13/ beobachtet. Der Effekt kann auch indirekt ausgenutzt werden, indem geeignete Farbstoffe an reale biologische Komponenten angelagert werden /14/. Eine systematische Ausnutzung der Resonanzverstärkung ist nur bei einer Anpassung der Anregungswellenlänge an die Molekülzustände und damit nur in Verbindung mit einem durchstimmbaren Farbstofflaser möglich.

Bei ausreichender Anregungsenergie kann auch eine breitbandige Absorption auftreten. Das Molekül ist dann in der Lage, die Schwingungsenergie durch innere Konversion sehr schnell abzugeben und unter Aussendung eines Photons der Energie $h \nu_F$ in den elektronischen Grundzustand überzugehen. In diesem Fall wird eine breitbandige Fluoreszenzemission beobachtet.

Das Ramanspektrum entsteht durch die Registrierung der Streulichtintensität als Funktion der Frequenz. Es wird immer die Frequenzverschiebung relativ zur Anregungsfrequenz mit der Einheit Wellenzahl (cm^{-1}) gemessen. Infolge der diskreten Rotations- und Schwingungsenergien der Moleküle ergibt sich ein Linienspektrum. Zur Auswertung des Spektrums wird die Lage der Linien, ihre Intensität und Breite sowie die Polarisation herangezogen.

Die Besonderheiten der Ramanmikroanalyse und die Aussagekraft der Spektren werden im folgenden soweit dargestellt, daß eine Interpretation der Messungen möglich ist.

2.1.3 Ramanmikroanalyse

Die Durchführbarkeit von ramanspektroskopischen Untersuchungen für die Mikroanalyse wurde bereits vorausgesagt, als die ersten Lasersysteme verfügbar waren /15/. Eine Voraussetzung für eine erfolgreiche Anwendung des Verfahrens besteht darin, daß der Streuprozess nicht von der Größe der Teilchen abhängt. Frühere Untersuchungen zeigten, daß die Ramanspektren von Mikropartikeln sehr gut mit den Spektren von makroskopischen Proben übereinstimmen /16/. Damit können die bisher mit makroskopischen Meßsystemen erhaltenen Daten als Referenzwerte für mikroanalytische Untersuchungen herangezogen werden.

Mikroanalytische Untersuchungen sind jedoch nicht auf die Registrierung von Spektren beschränkt. In Verbindung mit einer hochaufgelösten mikroskopischen Probenabbildung ist man auch in der Lage, die Verteilung einzelner Komponenten der Probe darzustellen. Prinzipiell wird dabei eine geeignete Schwingungsbande ausgewählt und die Probenoberfläche in einem an die Lage und Breite dieser Schwingungsbande angepassten Spektralbereich abgebildet (s. Abb. 2.6). Im Abschnitt 3.3 werden die Kriterien für eine optimale Erzeugung von Verteilungsbildern erörtert und es wird ein Meßverfahren abgeleitet, welches auch bei der Bilderzeugung eine optimale Streulichtunterdrückung gewährleistet und somit für eine breite Anwendung geeignet ist.

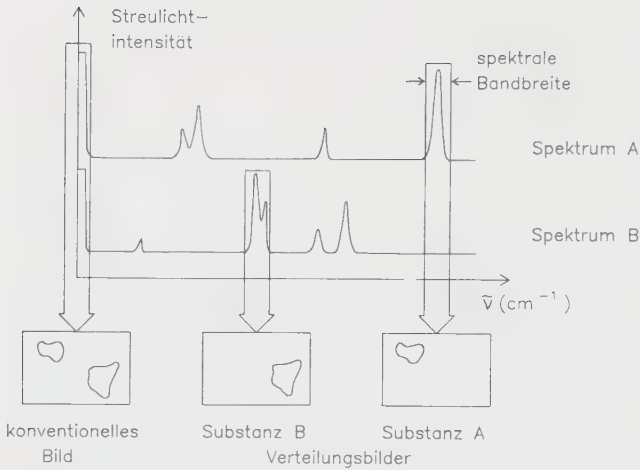


Abb. 2.6: Prinzipielle Darstellung der Identifizierung von Komponenten einer Probe anhand des Raman-Spektrums und der Erzeugung von Verteilungsbildern.

Quantitative Messungen an Mikropartikeln sind sehr ungenau, da die Teilchengröße, die Form und der Brechungsindex die Intensität der Ramanstreuung beeinflussen. Die relativen Intensitätsverhältnisse zwischen den einzelnen Schwingungsbanden werden davon jedoch nicht betroffen.

2.1.4 Aussagemöglichkeiten der Ramanspektroskopie

Die Aussagemöglichkeiten der Ramanspektroskopie bestimmen zusammen mit den experimentellen Möglichkeiten die Anwendbarkeit des Meßverfahrens. Ein Überblick über die bisherigen Anwendungen ergibt sich aus der Literatur /17-23/.

Zu den wichtigsten Anwendungen des Verfahrens gehört die Substanzidentifizierung anhand der charakteristischen Frequenzen bestimmter Gruppen eines Moleküls oder anhand von Bibliotheksspektren /24/. Darüber hinaus liefert eine genaue Analyse der Bandenlage und -intensität Informationen über Wechselwirkungen zwischen den Molekülen und ihre Anordnung im Gitter. Insbesondere zeigt sich in den Spektren die dynamische Wechselwirkung der schwingenden Moleküle im Gitter. So spalten die Schwingungsniveaus der Moleküle in so viele Komponenten auf, wie Moleküle in der Elementarzelle vorhanden sind. Dabei bewegen sich die Moleküle in der Zelle gleichartig, aber mit verschiedener relativer Phase.

Die Ramanspektroskopie liefert umfangreiche Angaben zur Charakterisierung von Polymeren. Neben der Identifizierung des Polymertyps können funktionelle Gruppen, Endgruppen, die Struktur von Ketten sowie Änderungen der Struktur unter äußeren Einflüssen bestimmt werden /25/. Darüber hinaus wird das Ramanspektrum von anderen Polymereigenschaften wie Kristallinität, Kettenfaltungen, Vernetzungen und mittleres Molekulargewicht beeinflusst. Diese Parameter charakterisieren physikalische Eigenschaften wie Härte, Widerstandskraft und Elastizität der Materialien und sind deshalb für analytische Aussagen besonders interessant.

Aus der Polarisation der Streustrahlung (s. Abschnitt 2.1.2) kann die Symmetrie der entsprechenden Molekülschwingung bestimmt werden. Dies erleichtert die Zuordnung der beobachteten Schwingungsbanden zu den Grundschrwingungen des Moleküls. Darüber hinaus liefert die Polarisation Anhaltspunkte für die Orientierung struktureller Einheiten in Polymeren /26/. In speziellen Fällen sind sogar Abschätzungen der Orientierung von Molekülgruppen bezüglich der Achse der Molekülkette möglich /27/.

Diese molekülspezifischen Aussagen bilden zusammen mit den Möglichkeiten der Identifizierung von Verunreinigungen anhand des Ramanspektrums die Grundlage für eine breite Anwendung des Verfahrens. Man ist damit in der Lage, eine Verknüpfung zwischen der Struktur und der Funktion der Probe herzustellen und so zu einer Entwicklung von Werkstoffen mit vorbestimmten physikalischen Eigenschaften beizutragen.

2.2 Polymere als Implantatwerkstoffe

Die Polymerchemie erlangt mit ihren hochentwickelten Produkten im medizinischen Bereich eine immer größere Bedeutung. Dies wird anhand von Tabelle 2.1 verdeutlicht, wo eine Auswahl von Polymeren und ihr jeweiliger medizinischer Anwendungsbereich dargestellt ist. Dieser erstreckt sich vom Einsatz als billige Einwegartikel in der klinischen Medizin und Analytik bis hin zum vollwertigen Ersatzteil für Körperfunktionen. Der besondere Vorteil von Kunststoffen liegt darin, daß sich eine Vielzahl verschiedener Forderungen erfüllen lassen.

Dies gilt insbesondere für die technisch-physikalischen Materialeigenschaften. Hier ist eine anwendungsorientierte Werkstoffauswahl möglich, da sich die Eigenschaften der Polymere von weich bis hart, löslich bis unlöslich und thermoplastisch bis duroplastisch erstrecken.

Die Verwendbarkeit der verschiedenen Kunststoffe für die Implantation hängt nicht nur von den mechanischen Eigenschaften, sondern auch von der Blutverträglichkeit, Körperverträglichkeit und Körperbeständigkeit ab.

Name	Abkürzung	Anwendung
Polyamid	PA	Spritzen, Katheter, Hautersatzmaterial
Polycarbonat	PC	Trägermaterial für graphitbeschichtete venöse Implantate
Polyethylen	PE	Spritzen, Drainagen, Katheter, Pfannenmat. f. künstl. Hüftgelenke Lagermat. f. künstl. Kniegelenke
Polymetacrylat	PMMA	Zement für künstl. Implantate Zannersatzmaterial
Polytetrafluorethylen	PTFE	Künstl. Herzklappen, Lagermat. f. künstl. Hüft- und Kniegelenke
Polyurethan	PUR	Blutkontaktmaterial, Austauschmembran f. künstl. Nieren
Polydimethylsiloxan	PDMS	Gewebsimplantate, Isoliermaterial f. Schrittmacherelektroden

Tabelle 2.1: Anwendungen von Polymeren in der Medizin

Materialien, die längerfristig einsetzbar sind, dürfen nicht toxisch wirken, keine Fremdkörperreaktionen auslösen, nicht von den Körperflüssigkeiten angegriffen werden und nicht thrombogen wirken.

2.2.1 Blutverträglichkeit

Die Verhinderung einer Blutgerinnung an der Polymeroberfläche ist bei vielen Anwendungen von entscheidender Bedeutung. Dies gilt für Herzklappen, Membranen für Oxygenatoren und extrakorporale Schlauchsysteme für die Dialyse.

Bisher wurde versucht, eine permanente Thromboresistenz zu erzielen, indem die synthetische Polymeroberfläche aktiv am Stoffwechselgeschehen beteiligt /28/ oder mit einer gerinnungshemmenden Substanz überzogen wurde /29/. Andere Ansätze zielten darauf ab, eine Blutgerinnung durch die Verwendung von biologischem oder biologisierten Material oder durch den Einbau von negativen Ladungen in die Polymeroberfläche zu verhindern /30/.

2.2.2 Biologischer Abbau

Ein Implantat befindet sich in einem permanenten hydrolytischen und enzymatischen Angriff des Organismus. Dies wirkt sich bei einigen Materialien in einer fortschreitenden Degradation aus. Das Maß des biologischen Abbaues hängt überwiegend von der Art der chemischen Bindungen und der Struktur des Kunststoffes ab. Für die in der vorliegenden Arbeit im Kapitel 5 untersuchten Implantatwerkstoffe kann von folgenden Modellvorstellungen ausgegangen werden:

Lineare Polymere wie Polyethylen werden abgebaut, indem die C-C Bindungen durch Übertragung von Radikalen aufgetrennt werden. Dieser Mechanismus kann durch freie Radikale im Gewebe oder durch Sauerstoff ausgelöst werden. Der Ablauf eines derartigen Angriffs ist in Abb. 2.7 dargestellt. Bei der Degradation wandert ein freies Radikal entlang der Kette zur nächsten Gruppe und es entstehen monomere Teilstücke, die vom Körper aufgenommen werden und toxische Reaktionen auslösen. Da große Bruchstücke nicht so leicht in das Gewebe diffundieren können, hängt die Toxizität sehr stark von der Größe der beim Abbau entstehenden Fragmente ab.

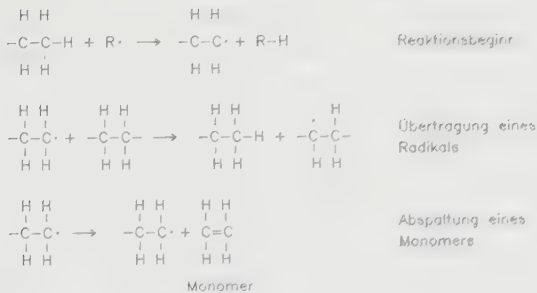


Abb. 2.7: Reaktionsverlauf einer Kettenspaltung durch Übertragung von Radikalen am Beispiel von Polyethylen. Als Endprodukte entstehen unter anderem freie Monomere.

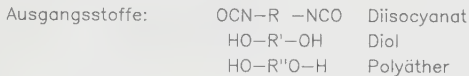
Lineare Polyurethane werden im allgemeinen durch Polyaddition von Dialkoholen mit Diisocyanaten (s. Abb. 2.8 oben) hergestellt /31/.

Ihre Eigenschaften sind denen der Polyamide sehr ähnlich, sie sind jedoch hydrolysebeständiger, nehmen weniger Wasser auf als diese und haben eine stärkere Kristallisationsneigung. Dabei ordnen sich die Molekülketten innerhalb der Kristallite durch Bildung von Wasserstoffbrücken zu Netzebenen oder Lamellen. Nach den bisherigen Erfahrungen mit Polymeren muß man davon ausgehen, daß besonders die linearen Moleküle im Laufe der Zeit gequollen und gelöst werden. Bei der Quellung dringen niedermolekulare Substanzen wie Wasser und Körperflüssigkeiten in das Molekülgefüge ein und lagern sich über Wasserstoffbrücken an den polaren Gruppen an. Nach längerer Einwirkungszeit werden die Moleküle allmählich voneinander abgehoben und gelöst.

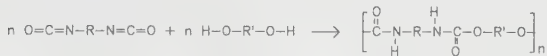
Unter Vernetzung versteht man eine weitmaschige Verknüpfung der Molekülketten. Dabei ergibt sich ein weichelastisches Verhalten des Materials, da verschiedene Kettenabschnitte infolge der gegenseitigen Drehbarkeit der C-Atome um ihre Bindungsachse beweglich sind. Beim Pellethane 2363-80A und -55D wird dieses Weichsegment von Polytetramethylenätherglycol gebildet. Als wichtigste Komponenten zur Herstellung dieses Materials werden Polytetramethylenätherglycol, 1,4 Butandiol und p,p'-Diisocyanatdiphenylmethan verwendet /32/. In einem ersten Reaktionsschritt wird die Hydroxylkomponente des Äthers mit einem großen Überschuß an Diisocyanat umgesetzt und es entstehen Macrodiisocyanate (s. Abb. 2.8). In einem zweiten Schritt werden diese Copolymere vernetzt. Mit 1,4 - Butandiol im Unterschuß entstehen Urethangruppen (-NH-CO-O-) und weiter mit überschüssigen Isocyanatgruppen Allophanate (s. Abb. 2.8 unten). Dies ergibt eine starke regelmäßige Verkettung der Polyurethankettenteile und es entstehen Bereiche stark vernetzter und unbeweglicher Polyurethanketten neben leicht beweglichen Polyätherketten. Diese Struktur hat zur Folge, daß das Material gleichzeitig große Härte und auch Elastizität besitzt.

Die Allophanate werden bei Temperaturen über 150° C reversibel gespalten, und das Material kann durch Extrusion verarbeitet werden. Nach der Formgebung bilden sich durch Tempern die Verknüpfungsstellen zurück, das Material ist jedoch sehr temperaturempfindlich und bereits oberhalb von 90° C setzt die Spaltung wieder ein.

Polymere enthalten in der Regel auch Weichmacher, Katalysatoren, Stabilisatoren und unpolymerisierte Monomere. Diese Zusätze beeinflussen ebenfalls die Toxizität und Karzinogenität des Materials, sodaß auch der Herstellungsprozeß eines für die Implantation vorgesehenen Materials unter sorgfältiger Kontrolle und Überwachung erfolgen muß.



a) lineares Polyurethan



b) vernetztes Polyurethan

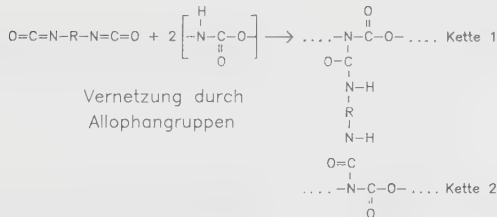
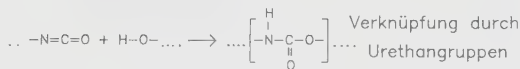
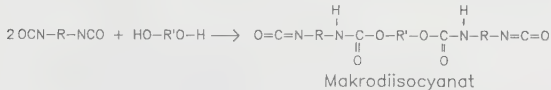


Abb. 2.8: Schematische Darstellung der Polyaddition von Polyurethan aus Diisocyanaten, Diolen und Polyäthern (Polyestern). Bei überschüssigem Isocyanat entstehen durch Reaktion der Isocyanatgruppen (-N=C=O) mit vorhandenen Urethangruppen (-NH-CO-O-) Allophanate, die eine Vernetzung der Ketten bewirken.

3. Diskussion des Versuchsaufbaues

Ein experimenteller Schwerpunkt der Untersuchungen ist der Aufbau und die Optimierung eines mikroanalytischen Meßsystems mit den Möglichkeiten einer raman-spektroskopischen Punktanalyse und Bild-darstellung.

Aus den durchgeführten Voruntersuchungen ergeben sich eine Reihe von Anforderungen an das Meßsystem. Diese sind zusammen mit den erarbeiteten Problemlösungen in Tabelle 3.1 dargestellt.

Forderung	Problemlösung
Abbildung und Beobachtung von Mikropräparaten	Konventionelles Lichtmikroskop
Monochromatische und intensitätsreiche Bestrahlung der Probe	Ankopplung eines Ar^+ -Lasers an das Mikroskop und beugungsbegrenzte Fokussierung der Laserstrahlung
Hohe Nachweisempfindlichkeit der Messanordnung für das Raman-Streulicht	Hoher Lichtleitwert des Mikroskops - Objektiv mit grosser Apertur - geometrischer Strahlteiler Empfindliches Detektorsystem - SIT- Vielkanaldetektor oder - gekühlter Photomultiplier mit Photon-Counting System
Bild-darstellung im Raman-Licht	Objekts-can mit Scanningtisch und Verwendung eines digitalen Bildspeichersystems
Unterdrückung von Streulicht	Messfeldablende
Unterdrückung der Laser-Plasma-Linien	Interferenzsperrfilter
Variable örtliche Auflösung	Fokussierung mit verschiedenen Objektiven oder Änderung der Beleuchtungsapertur

Tabelle 3.1: Zusammenstellung der Anforderungen an das Meßsystem und der erarbeiteten Problemlösungen.

Für die Abbildung der Probenoberfläche wird ein konventionelles Lichtmikroskop verwendet. Der Laserstrahl wird mit Hilfe eines optimierten Strahlteilers in das Mikroskop eingekoppelt und mit einem hochwertigen Objektiv beugungsbegrenzt auf die Probe fokussiert. Zur Unterdrückung der Laser-Plasmalinien wird im aufgeweiteten Laserstrahl ein Bandpassinterferenzfiltersystem eingesetzt. Ferner wird auf einen hohen Lichtleitwert des Mikroskops und des Spektrometers geachtet. Im Hinblick auf eine hohe Nachweisgrenze des Meßverfahrens und eine Reduzierung der Meßzeit wird ein Vielkanaldetektorsystem verwendet. Messungen mit sehr hoher spektraler Auflösung können jedoch auch unter Verwendung eines einkanaligen Meßsystems vorgenommen werden. Für die Darstellung von Ramanverteilungsbildern wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem das Objekt unter dem stehenden Laserstrahl rasterförmig verschoben wird und die Information sequentiell in ein digitales Bildspeichersystem eingelesen wird.

3.1 Aufbau des Meßsystems

Abb. 3.1 zeigt ein Blockdiagramm der wichtigsten Systemkomponenten und eine schematische Darstellung des optischen Meßaufbaues. Der Laserstrahl des verwendeten Ar^+ -Lasers gelangt über eine Aufweitungsoptik und zwei justierbare Umlenkspiegel in das Filtersystem zur Unterdrückung der Plasmalinien. Die Einkopplung in das Mikroskop erfolgt mit Hilfe eines neutralen oder geometrischen Strahlteilers. Die Aufweitung des Laserstrahls ist so bemessen, daß die Objektivpupille fast vollständig ausgeleuchtet wird. Dadurch wird erreicht, daß an den Objektivrändern kein Streulicht erzeugt wird und die Laserstrahlung fast beugungsbegrenzt auf die Probe fokussiert wird.

Das vom Objekt ausgehende Nutzlicht wird von der Gesamtapertur des Objektivs erfasst und über eine schaltbare Strahlweiche jeweils vollständig in das einkanalige oder mehrkanalige Spektrometersystem oder in den Beobachtungskanal eingekoppelt. Ein Longpassinterferenzsperrfilter mit sehr steiler Flanke sorgt für eine weitgehende Unterdrückung des Anregungslichtes bereits vor dem Spektrometersystem. Dadurch wird auch eine gefahrlose visuelle Beobachtung der Probe bei eingeschaltetem Laserstrahl ermöglicht.

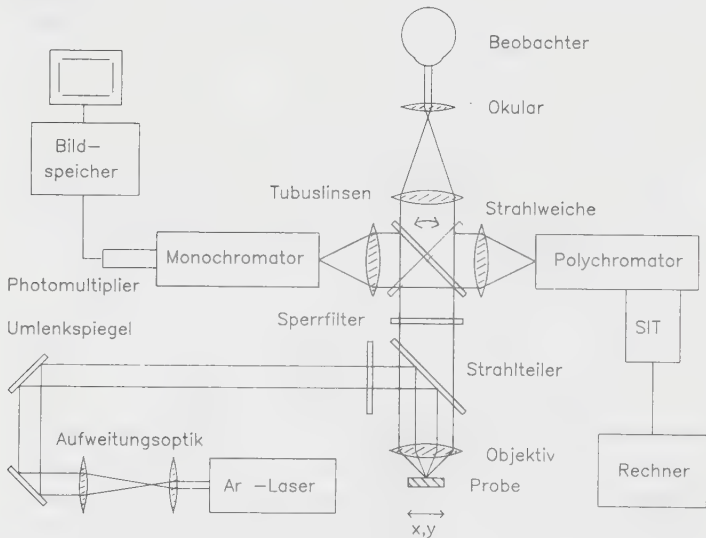


Abb. 3.1: Schematische Darstellung der wichtigsten Komponenten der Meßanordnung und des optischen Strahlverlaufs. Zur Registrierung des Ramansignals stehen zwei vollständige und separate Meßkanäle zur Verfügung. Diese Meßkanäle werden über eine Strahlweiche angewählt.

In der Eintrittsebene des Monochromatoren befindet sich jeweils eine kreisförmige Blende mit einem Durchmesser von $50\text{ }\mu\text{m}$. Diese Blende ist einerseits an die geometrische

Auflösung des Vielkanaldetektors mit 500 Meßkanälen auf 12,5 mm und andererseits an den Durchmesser des in die Eintrittsebene abgebildeten Probenbereiches angepasst. Auf diese Weise ergibt sich die im Abschnitt 4.4 beschriebene Unterdrückung von Streulicht und Störlicht aus dem Meßsystem und aus verschiedenen Probenbereichen.

Die Auswahl des Sperrfilters und Strahlteilers ist für den Transmissionsgrad der Meßanordnung von entscheidender Bedeutung. So muß wegen des sehr geringen Streuquerschnittes für die Ramanstreuung die Erregerlinie stark unterdrückt werden und ein sehr hoher Transmissionsgrad für die Ramanstrahlung erreicht werden. Die Verwendung eines teildurchlässigen Spiegels als Strahlteiler bringt spektralmäßig keine Probleme, da der Transmissionsgrad nicht vom Spektralbereich abhängt (s. Abb. 3.2). Da auf der Anregungsseite genügend Strahlungsleistung zur Verfügung steht, wird nicht ein energiemäßig optimaler 50 % Strahlteiler, sondern ein Strahlteiler mit einer Transmission über 50 % verwendet. Als Alternative zu diesem Teilerspiegel wird ein geometrischer Strahlteiler mit einem vollverspiegelten Mittenbereich eingesetzt. Dieser Teiler besitzt ebenfalls einen vom Spektralbereich unabhängigen Transmissionsverlauf. Bei diesem Strahlteiler ist jedoch eine Strahlaufweitung nicht möglich, und die Beleuchtungsapertur und damit auch die geometrische Auflösung wird reduziert.

Zur Unterdrückung der Erregerlinie wird zusätzlich zum Monochromator eine Kombination von 2 Longpassinterferenzfiltern verwendet. Mit dieser Kombination wird eine Unterdrückung der Laserlinie um den Faktor 10^7 erreicht, während der Transmissionsgrad im Abstand von 10 nm oder 400 cm^{-1} zur Erregerlinie bereits 80 % beträgt (s. Abb. 3.2). Dies ergibt in Verbindung mit dem Polychromator eine Unter-

drückung der Erregerlinie um den Faktor 10^{12} bei einem Transmissionsgrad von ca. 40 % für die Ramanstrahlung. Im Vergleich dazu ergibt sich mit den sonst in Verbindung mit Vielkanaldetektoren üblichen Dreifachmonochromatoren /33/ ein Transmissionsgrad von 5 - 8 %.

Während Interferenzfilter zur Unterdrückung der Erregerlinie sehr gut verwendet werden können, sind sie als Strahlteiler zur Einkopplung des Laserstrahls in das Mikroskop nicht geeignet. Bei einem Einfallswinkel von 45° zur Flächennormale des Filters kann keine sehr hohe Flankensteilheit erzielt werden /34/. Dadurch können die unteren Meßbereiche im Ramanspektrum $< 800 \text{ cm}^{-1}$ nicht erfasst werden. Auch zeigen derartige Filter eine starke Abhängigkeit der Transmission von der Polarisationsrichtung, sodaß eine Verwendung für diese Aufgabe nicht sinnvoll erscheint.

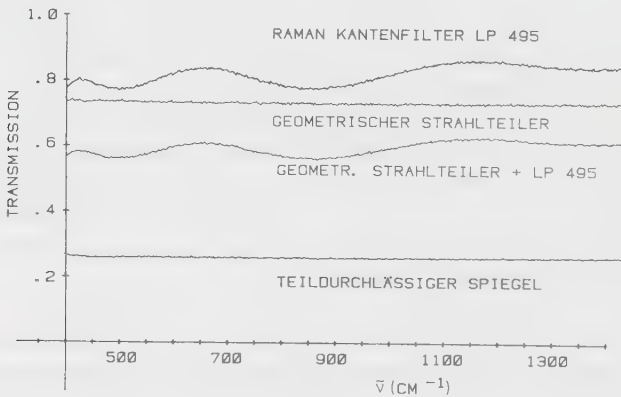


Abb. 3.2: Spektraler Transmissionsverlauf verschiedener Filtersysteme.

Polarisationsmessungen erfordern, daß sich die optischen Komponenten gegenüber der Polarisationsrichtung der Streustrahlung neutral verhalten. Der Reflexions- und Transmissionsgrad eines Strahlteilers wird durch die Fresnelschen Formeln beschrieben. Bei Vernachlässigung der Absorption gilt:

$$(3.1) \quad \begin{aligned} T_{\perp} &= 1 - R_{\perp} \\ T_{\parallel} &= 1 - R_{\parallel} \end{aligned}$$

mit

$$(3.2) \quad \begin{aligned} R_{\perp} &= \left(\frac{\cos\theta - (n^2 - \sin^2\theta)^{1/2}}{\cos\theta + (n^2 - \sin^2\theta)^{1/2}} \right)^2 \\ R_{\parallel} &= \left(\frac{n^2 \cos\theta - (n^2 - \sin^2\theta)^{1/2}}{n^2 \cos\theta + (n^2 - \sin^2\theta)^{1/2}} \right)^2 \end{aligned}$$

Das bedeutet, daß bei linear polarisierter Anregung der Transmissionsgrad des Strahlteilers für die verschiedenen Polarisationsrichtungen der Streustrahlung unterschiedlich ist. Der relative Unterschied ($T_{\perp} - T_{\parallel}$) kann möglichst gering gehalten werden, indem ein kleiner Einfallswinkel θ gewählt wird. Dies ist mit Hilfe der in Abb. 3.3 dargestellten Anordnung möglich /35,36/. Durch die Einführung eines zusätzlichen Spiegels wird der Einfallswinkel im Beleuchtungs- und im Nachweisstrahlengang von 45° auf $22,5^\circ$ reduziert, und der Reflexions- und Transmissionsgrad ist nahezu unabhängig von der Polarisationsrichtung (s. Gleichung 3.2).

Noch bessere Ergebnisse liefert die Verwendung eines sogenannten Berek Prismas /37/. Bei dieser Anordnung wird die Anregungsstrahlung im Prisma 3-fach totalreflektiert, wobei der Polarisationszustand insgesamt erhalten bleibt. Infolge der Totalreflexion ergibt sich gegenüber dem normalen Reflektor ein sehr hoher Transmissionsgrad und damit eine nahezu verlustfreie Einstrahlung. Ein weiterer Vorteil

dieser Anordnung besteht darin, daß das im Beleuchtungsstrahlengang erzeugte Streulicht nicht in den Nachweiskanal gelangt. Ein Nachteil dieser Anordnung ist darin zu sehen, daß das Prisma die halbe Objektivapertur ausfüllt und dadurch der optische Strahlungsfluß im Meßkanal halbiert wird.



Abb. 3.3: Strahlverlauf in dem für Polarisationsmessungen verwendeten Strahlteiler bestehend aus einem Spiegel und einer teildurchlässigen Glasplatte.

Zur Unterscheidung der Polarisationsrichtungen wird zwischen Sperrfilter und Strahlweiche ein Analysator und ein Depolarisator geschaltet. Der Depolarisator sorgt dafür, daß das vom Analysator durchgelassene Ramanstreulicht depolarisiert wird und das ebenfalls von der Polarisationsrichtung abhängige Transmissionsverhalten der zusätzlichen optischen Komponenten und des Monochromators neutralisiert wird.

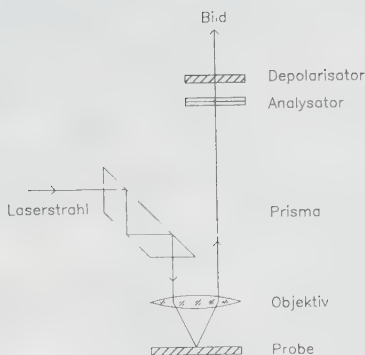


Abb. 3.4: Strahlverlauf in einem Berek-Prisma. Der linear polarisierte Laserstrahl wird dreimal totalreflektiert. Bei dieser Einstrahlung steht für den Nachweiskanal nur die halbe Apertur des Objektivs zur Verfügung.

Der gesamte Meßaufbau ist in Abb. 3.5 dargestellt. Man erkennt in der rechten Bildhälfte das Mikroskop mit angebautem Monochromator (rechts) und Polychromator (links). Der Ar^+ -Laser ist hinter dem Mikroskop angeordnet, und der Laserstrahl wird nach der Aufweitung mit einer Zusatzoptik von rechts in das Mikroskop eingekoppelt. Links neben dem Mikroskop befindet sich das verwendete optische Vielkanalanalysatorsystem (OMA II) mit mikroprozessorgesteuerter Datenerfassung, Registrierung und Verarbeitung. Die wichtigsten zusätzlichen elektronischen Baugruppen sind in einem separaten Elektronikschrank untergebracht. Ganz links in der Abbildung ist das digitale Bildspeichersystem mit Terminal und Farbmonitor zu erkennen. Die Ramanverteilungsbilder werden mit dem ganz rechts unter dem Mikroskop erkennbaren Videorekorder aufgezeichnet und gespeichert.



Abb. 3.5: Abbildung des Meßaufbaues mit folgenden Komponenten: Mikroskop, Monochromator, Polychromator, Vielkanal-detektorsystem (OMA II), Elektronikschrank, digitales Bildspeichersystem und Videorekorder (siehe auch Abb.3.1).

3.2 Registrierung von Ramanspektren

Mit dem Meßaufbau können Ramanspektren nach dem bisher üblichen Verfahren durch einkanaliges sequentielles Abtasten des interessierenden Spektralbereichs aufgenommen werden. Für Spektrenregistrierung wurde bei den in dieser Arbeit dargestellten Experimenten überwiegend ein Vielkanaldetektorsystem verwendet. Ein derartiges System besitzt gerade in Verbindung mit dem mikroanalytischen Aufbau eine Reihe von Vorteilen.

Der verwendete Vidikon-Detektor mit vorgeschaltetem Bildverstärker (Silicon Intensified Target) besitzt eine Breite von 12,5 mm. Bei 500 Meßkanälen ergibt sich daraus ein Meßkanalabstand von 25 μ m. Eine vollständige Ausnutzung des

Simultanvorteils ist nur möglich, wenn das Spektrometer-system bezüglich seiner geometrischen und spektralen Auflösung optimal an diese Geometrie angepasst wird.

Das Spektrometer besteht aus einem Polychromator mit komakorrigierter Czerney-Turner Anordnung des Gitters, einer Brennweite von 320 mm und einem Gitter mit 1200 L/mm. Mit diesem System wird eine spektrale Auflösung von 6 cm^{-1} erzielt. Vom Detektor wird simultan ein Spektralbereich von ca. 900 cm^{-1} erfasst. Damit sind für vollständige Punktanalysen mit einer Erfassung des gesamten Meßbereiches etwa 3 - 4 Messungen bei einer Meßzeit von jeweils 30 - 60 s erforderlich.

Als Eintrittsöffnung des Polychromators und gleichzeitig als Meßfeldblende zur Unterdrückung von Störlicht wird eine kreisförmige Blende mit einem Durchmesser von $50 \mu\text{m}$ verwendet. Diese Blende ist etwas größer als der in die Eintrittsebene abgebildete Meßbereich, und das gesamte Nutzlicht gelangt in den Polychromator. Andererseits ist die Blende nicht zu groß, damit eine optimale optische Anpassung an die Detektorgeometrie gewährleistet ist.

Bei der Abschätzung des realen Simultanvorteils muß berücksichtigt werden, daß die Empfindlichkeit des SIT-Detektors gegenüber einem Photomultiplier mit GaAs-Kathode etwa um den Faktor 4 geringer ist. Bei einkanali-gen Meßsystemen wird üblicherweise auch die Photon-Counting Technik eingesetzt. Bei diesem Verfahren wird das Anodenrauschen des Detektors unterdrückt und das Meßsignal mit einer Genauigkeit gemessen, die durch die Statistik der Photoelektronen bestimmt ist. Im Gegensatz dazu ist beim Vielkanaldetektor eine Diskriminierung des Verstärkungsrauschens nicht möglich, was eine weitere Reduzierung der Detektorempfindlichkeit ergibt.

Unter Berücksichtigung dieser Effekte verbleibt für das Vielkanaldetektorsystem ein ca. 25-facher Simultanvorteil, der sich insbesondere im Hinblick auf die erforderliche Meßzeit und die damit verbundene thermische Belastung der Proben als sehr vorteilhaft erweist.

Ein weiterer Vorteil der mehrkanaligen Registrierung besteht darin, daß ein zeitlich variabler Untergrund an Fluoreszenzlicht rechnerisch leicht eliminiert werden kann. Bei einer kontinuierlichen Probenbestrahlung nimmt die Fluoreszenzintensität im Laufe der Zeit ab (Ausbleicheffekt), sodaß bei der einkanaligen sequentiellen Registrierung ein über den Spektralbereich variabler Untergrund erhalten wird. Im Vergleich dazu sind bei der vielkanaligen Registrierung die spektralen Anteile konstant und es ändert sich nur die pro Zeitintervall registrierte Fluoreszenzintensität. Das ergibt einen den natürlichen Verhältnissen entsprechenden gleichmäßigen Signaluntergrund, der insbesondere bei schwach fluoreszierenden Proben rechnerisch sehr leicht korrigiert werden kann. Diese Vorteile ergeben in Verbindung mit der sehr guten Unterdrückung von Streulicht aus dem Substrat (s. Abschnitt 4.4) eine gegenüber den bisherigen Systemen verbesserte Anwendbarkeit des Meßverfahrens.

3.3 Registrierung von Ramanverteilungsbildern

Die Verteilung einer bestimmten Komponente in einer Probe kann dargestellt werden, indem die Intensität einer ausgewählten Schwingungsbande der Komponente für jeden einzelnen Bildpunkt registriert wird. Dabei werden an die Nachweisempfindlichkeit dieselben Anforderungen gestellt wie bei den Punktanalysen. Für diese Anwendung wurde ein Meßverfahren entwickelt, bei dem die Probe mit Hilfe eines x-y Scanningtisches rasterförmig abgetastet und das Meßsignal mit 8 bit Auflösung in einem digitalen Bildspeichersystem erfasst wird. Anstelle des Vielkanaldetektors wird

hier ein empfindlicher Photomultiplier und ein Photon-Countingsystem in Verbindung mit einem Monochromator verwendet (s. Abb. 3.1). Die spektrale Bandbreite des Systems ist an die Breite einer spezifischen Schwingungsbande angepasst und beträgt ca. 30 cm^{-1} . Es besteht auch die Möglichkeit, das Objekt mehrfach bis zum Erreichen eines ausreichenden Signalrauschverhältnisses abzurastern und die Meßdaten im Bildspeicher zu akkumulieren.

Dieser sequentielle Bildaufbau besitzt den Nachteil, daß infolge der sehr hohen Bildpunktzahl (128×128 bzw. 256×256 Bildpunkte) sehr lange Meßzeiten erforderlich sind. Man kann davon ausgehen, daß die Meßzeit pro Bildpunkt zwischen 10 ms und 100 ms liegt. Die Meßanordnung besitzt bei diesem Verfahren jedoch dieselben Eigenschaften wie bei der Punktanalyse, und Störlicht aus anderen Probenbereichen als dem jeweiligen Meßpunkt wird fast vollständig abgeblockt. Daraus ergibt sich eine sehr hohe Nachweisempfindlichkeit und ein sehr hoher Bildkontrast.

Versuche, ähnlich wie bei konventionellen Lichtmikroskopen das gesamte Bild simultan zu erfassen /38/, scheitern an der praktischen Anwendung. Dies liegt daran, daß bei diesem Verfahren, das auch in dem kommerziell erhältlichen Meßsystem MOLE realisiert ist, immer das gesamte Bildfeld beleuchtet wird. Dies hat zur Folge, daß probenabhängige Streueffekte und eine Probenfluoreszenz zu einem Signaluntergrund beitragen, der nicht nur vom jeweiligen Meßort, sondern auch von dessen Umgebung beeinflusst wird. Dies ergibt, wie bei den makroskopischen Systemen, einen sehr hohen Signaluntergrund, der das eigentliche Nutzsinal überdeckt.

Eine spektrale Filterung des gesamten Bildfeldes ist bei einem bildübertragenden System nur möglich, wenn die Aperturebene in die Eintrittsebene des Monochromators abgebildet wird. Daraus resultiert bei eingestellter hoher spektraler

Auflösung eine Verringerung des Lichtleitwertes des Spektrometers und somit eine weitere Reduzierung der Nachweisempfindlichkeit. Hinzu kommt eine durch das Spektrometer beeinträchtigte optische Abbildungsqualität, da die Bildübertragung nur für einige vorgewählte Wellenlängen stigmatistisch ist.

Diese Nachteile sind bei dem vorliegenden punktübertragenden Meßsystem nicht gegeben. Man erzielt vielmehr einen sehr hohen Bildkontrast, und eine Bilderzeugung ist in demselben Maße wie eine Punktanalyse möglich.

4. Grundlegende Untersuchungen und Experimente

In diesem Abschnitt werden diejenigen Meßparameter systematisch untersucht, die einen maßgebenden Einfluß auf die Empfindlichkeit des Meßverfahrens haben und wesentlich zu einer Erweiterung der Anwendbarkeit des Verfahrens beitragen. So werden die Empfindlichkeit und Ortsauflösung des Verfahrens, die thermische Belastung der Proben sowie Störeinflüsse und Maßnahmen zu deren Reduzierung dargestellt.

4.1 Empfindlichkeit des Meßverfahrens

Die Empfindlichkeit und Nachweisgrenze des Meßverfahrens wird durch die Höhe des Ramannutzsignals im Vergleich zu verschiedenen Störsignalanteilen bestimmt. Das Meßsignal ergibt sich aus dem von der Probe ausgehenden Ramanstreuungsfluß ϕ_R und dem Wirkungsgrad k des Meßsystems nach der Beziehung:

$$(4.1) \quad S_R = k \cdot \phi_R$$

Der Wirkungsgrad k beinhaltet hier den vom System erfassten Raumwinkelanteil der Ramanstrahlung, den Transmissionsgrad der verschiedenen optischen Komponenten und die Empfindlichkeit des Detektorsystems.

Die Intensität der Ramanstrahlung hängt vorrangig vom Streuquerschnitt für die inelastische Streuung an Molekülen, der Anzahl der in dem effektiven Streuvolumen vorhandenen Moleküle und der Anregungsleistung ab. Diese Abhängigkeit wird im folgenden so formuliert, daß der Einfluß verschiedener modifizierbarer Parameter erkennbar ist und eine gezielte Optimierung der Nachweisempfindlichkeit vorgenommen werden kann.

Für den von der Probe ausgehenden Ramanstreustrahlungsfluß kann angesetzt werden:

$$(4.2) \quad \phi_R = \sigma_R \cdot n \cdot d_{\text{eff}} \cdot \phi_O$$

Hier bezeichnet σ_R den Wirkungsquerschnitt für die Ramanstreuung, n die Anzahl der Moleküle pro Volumeneinheit, d_{eff} die effektive Streulänge (Streuvolumen/Strahlquerschnitt) und ϕ_O die Strahlungsleistung der anregenden Laserstrahlung. Mit den Beziehungen $n = \rho \cdot N_A / M_w$ und $\phi_O = E_O \cdot A_O$ folgt:

$$(4.3) \quad \phi_R = \sigma_R \cdot \frac{\rho \cdot N_A}{M_w} V \cdot E_O$$

Dabei bezeichnet V das effektive Streuvolumen, A_O die Strahlquerschnittsfläche, E_O die Bestrahlungsstärke, M_w das mittlere Molekulargewicht der Probe und N_A die Konstante nach Avogadro. Für eine Probe mit $\sigma_R = 10^{-29} \text{ cm}^2/\text{Molekül}$, $\rho = 2 \text{ g/cm}^3$ und $M_w = 100 \text{ g/Mol}$ ergibt sich bei einem effektiven Streuvolumen von $10 \text{ } \mu\text{m}^3$ und einer Bestrahlungsstärke von 10^5 W/cm^2 ein Ramanstrahlungsfluß von $1,2 \cdot 10^{-13} \text{ W}$ oder $3 \cdot 10^5$ Photonen/s. Die effektive Masse des analysierten Probenbereiches beträgt etwa 20 pg.

Der Wirkungsgrad des Meßsystems setzt sich aus dem vom System erfassten Raumwinkelanteil $d\Omega$ des Ramansignals, dem Transmissionsgrad der optischen Komponenten T_m und der Empfindlichkeit D des Detektorsystems zusammen. Geht man davon aus, daß die Nachweisgrenze des Meßverfahrens nicht durch Störeinflüsse begrenzt wird, so kann anhand der Empfindlichkeit des Meßsystems folgende quantitative Abschätzung vorgenommen werden:

Mit den genannten Abkürzungen folgt aus (4.1) und (4.3) für das eigentliche Meßsignal:

$$(4.4) \quad S_R = \sigma_R \cdot \frac{\rho \cdot N_A}{M_w} V \cdot E_O \cdot \frac{d\Omega}{4\pi} T_m \cdot D$$

Dies bedeutet, daß die Nachweisgrenze von substanz- und auch meßsystemspezifischen Größen abhängt. Eine Optimierung des Meßaufbaues wird insbesondere hinsichtlich des Transmissionsgrades und des erfassten Raumwinkelanteils vorgenommen. Darüber hinaus wird im Hinblick auf eine Reduzierung der Meßzeit und der Probenbelastung ein Vielkanaldetektorsystem für die Spektrenregistrierung eingesetzt.

Mit einem Objektiv der numerischen Apertur 0,75 werden ca. 24 % des gesamten Raumwinkels erfasst. Dieser Anteil ist im Vergleich zu makroskopischen Systemen mit einer F/1,8 Erfassungsoptik um den Faktor 13 größer. Für die Transmission der abbildenden optischen Komponenten kann ein Betrag von 80 % angesetzt werden. Hinzu kommt eine Transmission des verwendeten Strahlteilers und des Kantenfilters zur Unterdrückung der Erregerstreuung von insgesamt 60 %. Der Transmissionsgrad des Monochromators wird überwiegend durch das Reflexionsvermögen des Gitters bestimmt und beträgt im verwendeten Spektralbereich 40 %. Für die Spektrenregistrierung wird ein SIT-Vielkanaldetektorsystem mit integriertem Bildverstärker (Silicon Intensified Target) verwendet. Die Empfindlichkeit dieses Detektors beträgt ca. 0,05 Impulse/Photon und ist etwa um den Faktor 4 geringer als die eines herkömmlichen Photomultipliers mit einer Multialkalikathode (Quantenausbeute etwa 20 %). Damit ergibt sich für das Meßsystem ein Wirkungsgrad in der Größenordnung von 0,5 %.

Für ein Probenvolumen von $10\text{ }\mu\text{m}^3$ erhält man nach diesen Abschätzungen ein Meßsignal von 750 Impulsen/s. Die Elektronik und die Empfindlichkeit des Vielkanaldetektors ist so abgestimmt, daß das Eigenrauschen pro Kanal 30 Impulse/s nicht übersteigt. Dies ergibt mit der Bedingung, daß die

Gesamtintensität einer Ramanbande auf 3 benachbarte Meßkanäle fällt, bei einer Meßzeit von 1s ein Signal-rauschverhältnis von 8. Bei längeren Meßzeiten können auch schwächere Banden mit einem ausreichenden Signalabstand zum Untergrund registriert werden. Die Nachweisgrenze liegt bei einer Meßzeit von 30s pro Spektrum bei ca. $1 \mu\text{m}^3$, das entspricht einer Masse von etwa 2 pg. Diese Abschätzung gilt für reine Substanzen und ohne Berücksichtigung von starken Störsignalen. Um diese Werte in der Praxis zu erreichen, müssen geeignete experimentelle Maßnahmen getroffen werden (s. Abschnitt 4.4). Dabei ist mit folgenden Störsignalen zu rechnen:

Dem Nutzsignal ist ein großer Anteil von elastischem Streulicht überlagert, der hier unter dem Begriff Rayleigh-Streulicht zusammengefasst und unabhängig von der Größe der streuenden Teilchen benutzt wird. Genaugenommen erfolgt die Photonenstreuung durch elastisch gebundene Elektronen, wobei Resonanzfrequenzen der Elektronen und das Verhältnis Photonenenergie/Elektronenenergie eine Rolle spielen. Der Streuquerschnitt für die elastische Streuung an quasi freien Elektronen beträgt ca. $6 \cdot 10^{-25} \text{ cm}^2/\text{Elektron}$ und ist um den Faktor 10^4 höher als der Streuquerschnitt für die Ramanstreuung. Zum elastischen Streulicht trägt aber in entscheidendem Maße die Mie-Streuung an großen Teilchen (Staub, Inhomogenitäten im Material) bei. Diese Teilchen sind groß gegen die Wellenlänge des Lichtes, und die von verschiedenen Teilchen abgestrahlten Lichtwellen können interferieren. Dies führt zur Ausbildung von sogenannten Speckles. Der Streuquerschnitt für diesen Streuprozess entspricht dem Teilchenquerschnitt und kann um 6 - 10 Größenordnungen über dem Wirkungsquerschnitt für die Ramanstreuung liegen.

Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, daß die Probe stark absorbiert und thermisch belastet wird. In diesem Fall kann auch eine Fluoreszenzemission auftreten, für die gilt:

$$\begin{aligned}
 (4.5) \quad \phi_F &= \phi_A \cdot Q_F \\
 &= (1 - \exp(-\alpha \cdot d)) \cdot \phi_O \cdot Q_F \\
 &\approx \alpha \cdot d \cdot \phi_O \cdot Q_F
 \end{aligned}$$

Dabei bezeichnet ϕ_A die absorbierte Strahlungsleistung, Q_F die Fluoreszenzausbeute, ϕ_O die eingestrahlte Strahlungsleistung und α den Absorptionskoeffizienten der Probe. Da die Fluoreszenzausbeute im allgemeinen sehr hoch ist (0,01 - 0,8), kann das Fluoreszenzsignal das Ramansignal um bis zu 10 Größenordnungen übertreffen. Eine spektrale Filterung wie beim elastischen Streulichtanteil ist nicht möglich, da sich die Frequenzbereiche der beiden Anteile überdecken.

4.2 Geometrische Auflösung des Messverfahrens

Die geometrische Optik beschreibt das Abbildungsverhalten optischer Elemente nur näherungsweise. Infolge der Beugungserscheinungen an den Rändern der abbildenden Elemente ergibt sich ein Übertragungsverhalten, welches von den Eigenschaften der einfallenden Strahlung und der Apertur der abbildenden Elemente abhängt. Dementsprechend ergibt sich das optische Bild als Faltung des geometrisch perfekten und vergrößerten Bildes mit der Impulsantwort des Systems. Für die erzielbare örtliche Auflösung des Meßverfahrens ist nun entscheidend, welches Intensitätsprofil

in der Probe erzielt werden kann und wie groß der minimale Durchmesser des beleuchteten Probenbereiches ist.

4.2.1 Fokussierung ebener Wellen

Treffen ebene Wellen auf eine kreisförmige Blende mit Radius r_0 (s. Abb. 4.1), so ergibt sich in Fraunhoferscher Näherung folgende Intensitätsverteilung hinter der Blende:

$$(4.6) \quad I(r) = \left(\frac{2 J_1(x)}{x} \right)^2$$

mit $x = k \cdot r_0 \cdot r$ und $J_1(x)$ = Besselfunktion. Diese sogenannte Airy-Verteilung ist rotationssymmetrisch zur optischen Achse und besitzt senkrecht dazu verschiedene Maxima und Minima. Innerhalb der nullten Beugungsordnung befinden sich ca. 83,8 % der auf die Blendenöffnung fallenden Strahlungsenergie. Fokussiert man die Strahlung mit einer Linse der Brennweite f und Radius r_0 , so folgt aus (4.6) mit der Bedingung $J_1(x) = 0$ für den Radius des Beleuchtungspunktes:

$$(4.7) \quad 2\pi/\lambda \cdot r_0 \cdot r = 1,22 \cdot \pi \cdot f$$

$$r = \frac{0,61 \cdot \lambda \cdot f}{r_0} = : w_A$$

Die beste Fokussierung wird folglich mit Objektiven hoher Apertur erzielt. Ferner liegt der Durchmesser des Beleuchtungspunktes im Bereich der Lichtwellenlänge.

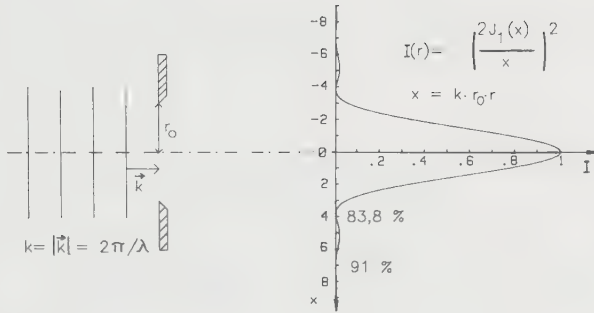


Abb. 4.1: Beugung ebener Wellen an einer kreisförmigen Blende mit Radius r_0 . Die Intensitätsverteilung hinter der Blende entspricht einer Airy-Verteilung.

4.2.2 Fokussierung von Laserstrahlung

Das Intensitätsprofil der von einem Laser emittierten Strahlung hängt von der Geometrie des Resonators ab. Für einen konfokalen sphärischen Resonator ergibt sich als Envelope der emittierten Strahlung ein Rotationshyperboloid und für den TEM_{00} Strahlungsmodus ein Gauß'sches Intensitätsprofil (s. Abb. 4.2). Der Radius des Strahlprofils in der Entfernung z von der Strahltaille ω_0 ist gegeben durch die Beziehung:

$$(4.8) \quad \omega(z) = \omega_0 \left(1 + \left(\frac{\tan \theta \cdot z}{\omega_0} \right)^2 \right)^{1/2}$$

Als Radius des Strahlprofils wird der Abstand vom Strahlmaximum bezeichnet, bei dem die Intensität auf das $1/e^2$ fache des Maximalwertes abgefallen ist. Für die Divergenz dieser Strahlung gilt in asymptotischer Näherung:

$$(4.9) \quad \theta \approx \tan \theta = \frac{\lambda}{\pi \cdot \omega_0}$$

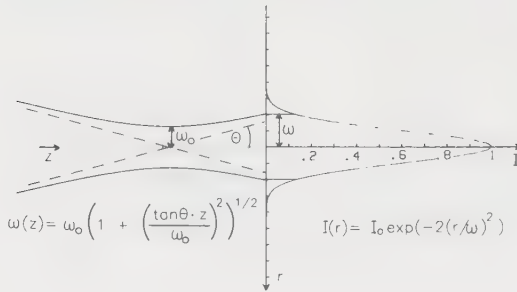


Abb. 4.2: Intensitätsprofil der von einem Laser mit konfokalem sphärischen Resonator emittierten Strahlung (TEM₀₀-Mode).

Fokussiert man diesen Strahl mit einer Linse der Brennweite f und Öffnung 2ω , so folgt nach Abb. 4.3 für den Radius des Beleuchtungspunktes:

$$(4.10) \quad \omega_0 \approx f \cdot \theta' = \frac{\lambda \cdot f}{\pi \cdot \omega} =: \omega_G$$

Bei der Abbildung mit sphärischen Linsen bleibt das Gauß'sche Intensitätsprofil erhalten, es ändert sich nur ω .

Innerhalb der durch ω_G definierten Fläche befinden sich 86,5 % der gesamten Strahlungsenergie des Laserstrahls.

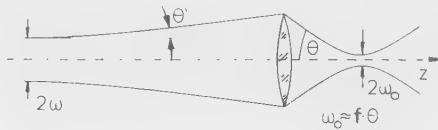


Abb. 4.3: Strahlenverlauf bei der Fokussierung von Laserstrahlung mit einer sphärischen Linse der Brennweite f . Das Strahlprofil bleibt erhalten, es ändern sich die Strahldivergenz und der Strahldurchmesser.

Vergleicht man diesen mit Gauß'schen Strahlen erzielbaren Beleuchtungspunkt mit der Abbildung ebener Wellen, so folgt mit der Beziehung $r_0 = \omega$:

$$(4.11) \quad \frac{\omega_A}{\omega_G} = \frac{0,61 \cdot \lambda \cdot f}{\omega} \cdot \frac{\pi \cdot \omega}{\lambda \cdot f} = 0,61 \cdot \pi \approx 1,92$$

Damit läßt sich bei der Fokussierung Gauß'scher Strahlen unter den genannten Bedingungen ein Beleuchtungspunkt erzielen, dessen Durchmesser um das 1,92-fache kleiner ist als die kleinste im herkömmlichen Lichtmikroskop ausleuchtbare Fläche.

Die Auflösung beim punktweisen Abtasten des Objektes kann jedoch nicht um diesen Betrag erhöht werden. Nach dem Rayleigh-Kriterium werden in einem Lichtmikroskop zwei Punkte dann noch aufgelöst, wenn das Maximum der einen vom Objektiv übertragenen Airy-Verteilung in das Minimum der zweiten Verteilung fällt (s. Abb. 4.4). Für diesen Grenzfall ergibt sich zwischen den Punkten eine Einsattelung der Intensität auf 73 % des Maximalwertes, was mit dem mensch-

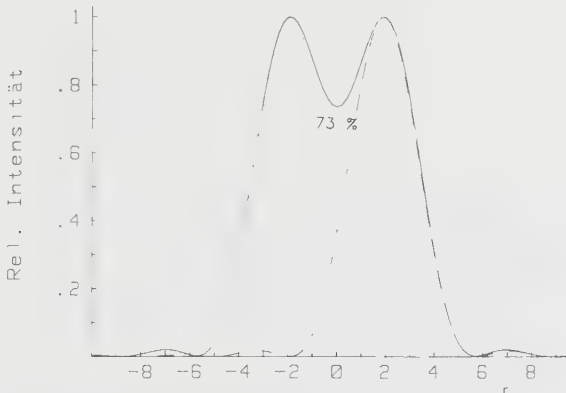


Abb. 4.4: Schematische Darstellung der Auflösung zweier Punkte nach dem Rayleigh-Kriterium. Zwischen den Punkten ergibt sich eine Einsattelung der Intensität auf 73 % des Maximalwertes.

lichen Auge gerade noch auflösbar ist. Für ein Gauß'sches Intensitätsprofil mit Radius ω_G ergibt sich nach Abb. 4.5 eine Einsattelung auf 73 % des Maximalwertes erst bei einem Abstand der Punkte von $\sqrt{2} \cdot \omega_G$. Die Auflösungsverbesserung wird dadurch deutlich reduziert und beträgt real nur $1,92/\sqrt{2} \approx 1,3$.

Wenn der Laserstrahl vor der fokussierenden Linse nur soweit aufgeweitet wird, daß nicht die Bedingung $r_0 = \omega$, sondern $r_0 = (\pi/2) \cdot \omega$ erfüllt ist, werden von der Linse nur 0,7 % der gesamten Strahlungsenergie beschnitten. In diesem Fall sind die Beugungseffekte an den Linsenrändern sehr gering /39/, der erzielbare Fokusedurchmesser ist nach Gleichung 4.11 jedoch nur um den Faktor 1,22 kleiner als bei der Fokussierung ebener Wellen. Berücksichtigt man auch hier die unterschiedliche Einsattelung zwischen den Intensitätsmaxima, so ist eine Auflösungsverbesserung nicht mehr möglich.

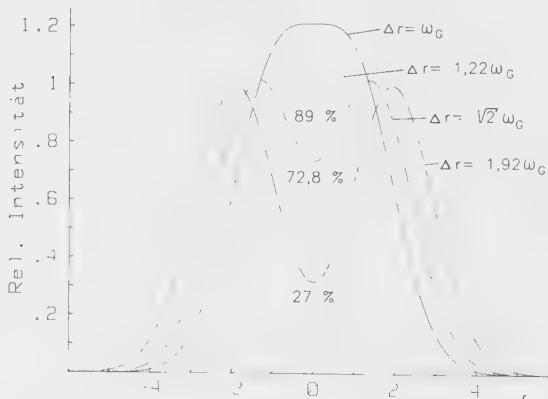


Abb. 4.5: Darstellung des Intensitätsverlaufs bei der Überlagerung von Gauß-Profilen mit unterschiedlichem Abstand.

4.3 Thermische Belastung der Proben

Eine Verbesserung des Signal-Rauschverhältnisses ist durch eine Verlängerung der Meßzeit oder eine Erhöhung der Bestrahlungsstärke möglich. Dabei ergeben sich jedoch gewisse Grenzen, denn infolge der Absorption von Strahlung durch die Probe kann eine photothermische oder photochemische Probenzerstörung auftreten. Als Grenze der Objektbelastbarkeit wird eine bestimmte Temperatur angesetzt, die zu keinem Zeitpunkt und an keinem Ort innerhalb der Probe überschritten werden darf.

4.3.1 Voraussetzungen und Grundlagen

Bei den vorliegenden Modellrechnungen wird davon ausgegangen, daß die Energieaufnahme der Probe ausschließlich durch Absorption erfolgt. Dabei gilt für die in der Schichtdicke d absorbierte Strahlungsleistung:

$$(4.12) \quad \phi_A = \phi_O \left(1 - \exp(-\alpha \cdot d) \right) \\ \approx \phi_O \cdot \alpha \cdot d = E_O \cdot A_O \cdot \alpha \cdot d$$

mit α = Absorptionskoeffizient der Probe, A_O = bestrahlte Fläche, ϕ_O = Bestrahlungsleistung und E_O = Bestrahlungsstärke.

Die Wärmeabgabe der Probe erfolgt durch Wärmeleitung innerhalb der Probe und durch Konvektion und thermische Abstrahlung an der Probenoberfläche. Die Wärmeleitfähigkeit der Probe, die spezifische Wärme und die Dichte der Probe werden im betrachteten Temperaturbereich als konstant angesetzt.

Für den Wärmeübertrag pro Zeiteinheit infolge Konvektion an einer Grenzfläche gilt:

$$(4.13) \quad \dot{Q}_k = \alpha_k \cdot A \cdot \Delta T$$

ΔT ist hier der Absolutbetrag der Temperaturdifferenz an der Grenzfläche und α_k die Wärmeübergangszahl.

Nach Stefan-Boltzmann gilt für das Gesamtemissionsvermögen eines schwarzen Körpers der Temperatur T :

$$(4.14) \quad \epsilon = \sigma \cdot T^4$$

Dabei bezeichnet σ die Stefan-Boltzmann-Strahlungskonstante. Für die Energie, die pro Zeiteinheit als Strahlungsdifferenz in den gesamten Raumwinkel abgestrahlt wird, gilt mit $T = T_0 + \Delta T$:

$$(4.15) \quad \dot{Q}_s = 4\alpha_s \cdot \sigma \cdot T_0^3 \cdot \Delta T \cdot A$$

α_s bezeichnet hier den Emissionsgrad der Probe.

Der Temperaturverlauf innerhalb der Probe läßt sich aus der Differentialgleichung der Wärmeleitung berechnen:

$$(4.16) \quad \frac{\delta T}{\delta t} = \frac{\lambda}{c_w \cdot \rho} \left\{ \frac{\delta^2 T}{\delta x^2} + \frac{\delta^2 T}{\delta y^2} + \frac{\delta^2 T}{\delta z^2} \right\} + \frac{q}{c_w \cdot \rho}$$

mit λ = Wärmeleitfähigkeit, q = pro Volumeneinheit und Zeiteinheit erzeugte Energie, ρ = Dichte und c_w = spezifische Wärme der Probe. Die Temperatur ist dabei eine Funktion von Ort und Zeit und erfüllt die vorgegebenen Anfangs- und Randbedingungen.

4.3.2 Stationäre Objektbestrahlung

Betrachten wir eine halbkugelförmige Probe mit Radius r_2 , die an der Oberfläche in einem Bereich mit Radius r_1 gleichförmig bestrahlt wird (s. Abb. 4.6). Es liegt ein radialsymmetrisches Problem vor, und die Wärmemenge, die pro Zeiteinheit durch ein zum Temperaturgefälle senkrechtes Flächenelement dA fließt, ist gegeben durch die Beziehung:

$$(4.17) \quad \dot{Q} = - \lambda_w \cdot dA \cdot \text{grad } T$$

Daraus folgt für die pro Zeiteinheit durch Wärmeleitung abgeführte Wärmemenge:

$$(4.18) \quad \dot{Q} = - \lambda_w \cdot 2\pi r^2 \cdot dT/dr$$

Der Temperaturverlauf ergibt sich direkt durch Integration

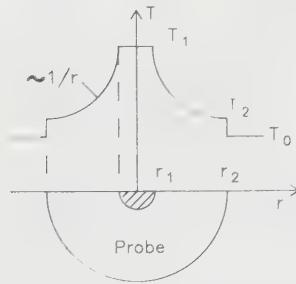


Abb. 4.6: Temperaturverlauf in einer halbkugelförmigen Probe mit Radius r_2 bei Bestrahlung einer Fläche mit Radius r_1 . Die Wärmeübertragung erfolgt innerhalb der Probe durch Wärmeleitung, an der Probenoberfläche durch Konvektion und Abstrahlung.

mit den Randbedingungen $T|_{r=r_1} = T_1$, $T|_{r=r_2} = T_2$ und $T|_{r>r_2} = T_0$:

$$\int_{T_1}^{T_2} dT = - \int_{r_1}^{r_2} \frac{\dot{Q}}{2\pi\lambda_w r^2} dr$$

Daraus folgt:

$$(4.19) \quad T_1 = T_2 + \frac{\dot{Q}}{2\pi\lambda_w} \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right)$$

$$(4.20) \quad T(r) = T_1 - \frac{T_1 - T_2}{\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2}} \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r} \right)$$

Für die Wärmeabgabe an der Probenoberfläche mit Temperatur T_2 an die Umgebung mit Temperatur T_0 gilt:

$$\dot{Q} = 2\pi r_2^2 (T_2 - T_0) (\alpha_k + 4\sigma\alpha_s \cdot T_0^3)$$

daraus folgt nach Einsetzen von Gl. 4.19:

$$(4.21) \quad \dot{Q} = \frac{2\pi\lambda_w (T_1 - T_0)}{\left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right) + \frac{\lambda_w}{r_2^2 (\alpha_k + 4\sigma\alpha_s \cdot T_0^3)}}$$

$$(4.22) \quad T_1 = T_0 + \frac{\dot{Q}}{2\pi\lambda_w} \left[\left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right) + \frac{\lambda_w}{r_2^2 (\alpha_k + 4\sigma\alpha_s \cdot T_0^3)} \right]$$

Die zu- und abgeführten Strahlungsleistungen stehen im Gleichgewicht und es gilt:

$$(4.23) \quad \dot{Q} = \phi_A = E_0 \cdot A_0 \cdot \alpha \cdot d$$

In Abb. 4.7 ist die maximale Temperaturerhöhung in der Probe in Abhängigkeit von der Bestrahlungsstärke und der Absorptionskonstanten der Probe dargestellt. Der Maximalwert hängt linear von der Bestrahlungsstärke und dem Absorptionskoeffizienten der Probe ab. Bei einer Bestrahlungsstärke von 10^5 W/cm^2 ergibt sich für $\alpha = 100 \text{ cm}^{-1}$ eine Temperaturerhöhung um ca. 10 K. Die Übertemperatur ist dabei, wie in Abb. 4.6 bereits angedeutet, im Bereich der bestrahlten Fläche am höchsten und nimmt zum Probenrand hin proportional $1/r$ ab.

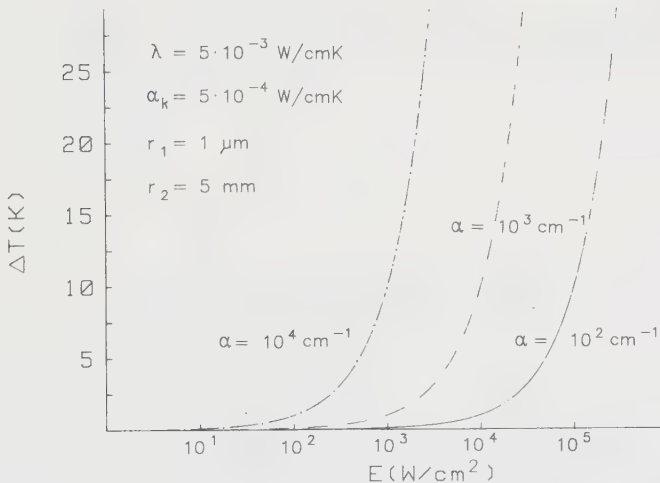


Abb. 4.7: Maximale Temperaturerhöhung in einer halbkugelförmigen Probe in Abhängigkeit von der Bestrahlungsstärke und der Absorptionskonstanten der Probe.

Charakteristische Parameter verschiedener Materialien sind in Tabelle 4.1 dargestellt. Die zulässige maximale Bestrahlungsstärke bei einer angenommenen Temperaturerhöhung von 20 K liegt dabei im Bereich von $8 \cdot 10^3 - 1,6 \cdot 10^5 \text{ W/cm}^2$.

Material	α (1/cm)	λ (W/cmK)	α_s	E (W/cm ²)
Polyethylen	> 100	$4 \cdot 10^{-3}$	> 0.9	$1.6 \cdot 10^5$
Teflon		$2 \cdot 10^{-3}$		$8 \cdot 10^4$
Mineral	10^4	$2 \cdot 10^{-2}$	0.95	$8 \cdot 10^3$
biolog. Probe	10^3	$6 \cdot 10^{-3}$	0.9	$2.4 \cdot 10^4$

$$\begin{aligned} r_1 &= 1 \text{ } \mu\text{m} \\ r_2 &= 5 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\alpha_K = 5 \cdot 10^{-4} \text{ W/cmK}$$

$$\begin{aligned} T_0 &= 300 \text{ K} \\ \Delta T &= 20 \text{ K} \end{aligned}$$

Tabelle 4.1: Zulässige Bestrahlungsstärke für verschiedene Materialien bei punktförmiger Bestrahlung.

4.3.3 Sequentielles Abtasten des Objektes

Es wird angenommen, daß sich der Laserfokus mit konstanter Geschwindigkeit v in x-Richtung bewegt. Bei eindimensionaler Betrachtung des Vorganges stellt sich eine Temperaturverteilung ein, welche der Wärmeleitungsgleichung (4.16) genügt und durch die Gleichung

$$(4.24) \quad T(x,t) = \frac{P}{4 \cdot \sqrt{\pi \cdot \lambda \cdot c_w \cdot t}} \cdot \exp \left(-x^2 \cdot \frac{c_w}{4 \lambda t} \right)$$

beschrieben werden kann. Die Wärme strömt dabei von der zur Zeit $t=0$ sehr heißen Stelle $x=0$ nach beiden Seiten weg, wobei die $1/e$ Breite der Glockenkurve durch die Beziehung $2r = 2 \sqrt{4\lambda_w t / \rho c_w}$ gegeben ist. Die Temperatur an der Stelle $x = 0$ nimmt proportional $1/\sqrt{4\lambda_w t / \rho c_w}$ ab. An einer beliebigen Stelle x_0 steigt die Temperatur zunächst an, um nach Erreichen des Maximum wieder langsam abzusinken. Aus der Bedingung $dT(x,t)/dt = 0$ folgt, daß das Maximum an der Stelle x_0 zur Zeit $t = x_0^2 \cdot \rho \cdot c_w / 2\lambda_w$ erreicht wird.

Solange die Scan-Geschwindigkeit klein gegen die Geschwindigkeit der Wärmediffusion ist, gelten die Ergebnisse der im letzten Abschnitt behandelten stationären Probenbestrahlung und die Temperaturerhöhung in der Probe wird ebenfalls durch Gleichung (4.22) beschrieben. Die Bedingung dafür lautet:

$$(4.25) \quad \frac{x^2 \cdot \rho \cdot c_w}{2\lambda_w} \ll \frac{x}{v}$$

Daraus folgt mit $x = r_1$ die Bedingung:

$$(4.26) \quad v \ll \frac{2 \lambda_w}{r_1 \cdot \rho \cdot c_w}$$

Für Polyethylen mit $\lambda_w = 4 \cdot 10^{-3}$ W/cmK, $\rho = 0,95$ g/cm³ und $c_w = 2$ Ws/gK ergibt sich bei einem Spotradius von 1 μ m die Bedingung $v \ll 40$ cm/s. Dies bedeutet andererseits, daß die stationäre Betrachtung auch gültig ist, wenn die Meßzeit pro Bildpunkt groß ist gegen 5 μ s. Bei der Raman-Mikroanalyse sind im Gegensatz zu anderen Verfahren /40/ beide Bedingungen immer erfüllt, denn infolge des sehr schwachen Nutzsignals kann die Meßzeit bei den vorliegenden Experimenten nicht kürzer als 10 ms pro Bildpunkt gewählt werden. Dies bedeutet, daß bei allen Experimenten die Randbedingungen der stationären Objektbestrahlung gültig sind und die Be-

strahlungsstärke auch beim punktweisen Abtasten des Präparats nicht höher sein darf als bei Punktanalysen.

Eine Erhöhung der Objektbelastung ist unter diesen Bedingungen nur bei verbesserter Präparatkühlung möglich. So besteht zum Beispiel die Möglichkeit, die Präparatoberfläche mit Wasser zu bedecken, um die im Vergleich zu Luft höhere Wärmeübergangszahl des Wassers auszunutzen. Isolierte Mikropartikel können für Untersuchungen auch auf Substrate mit hoher Wärmeleitfähigkeit, z.B. Saphir, aufgebracht werden.

4.4 Maßnahmen zur Reduzierung von Hintergrundstrahlung

Die bisherigen Ausführungen zeigen, daß die Empfindlichkeit des Meßverfahrens ausreicht, um Ramanspektren von mikroskopischen Probenbereichen bei einem effektiven Volumen von einigen Femtolitern aufzunehmen. Für praktische Anwendungen ist es jedoch unerlässlich, daß Streulicht, welches außerhalb des interessierenden Probenbereiches entsteht, im Meßsystem möglichst vollständig abgeblockt wird.

4.4.1 Streulicht aus dem Meßsystem

In einigen optischen Komponenten des Meßsystems, die direkt der anregenden Laserstrahlung ausgesetzt sind, wird ein nicht zu vernachlässigender Streulichtuntergrund erzeugt. Dieses Streulicht wird bei der gewählten Meßanordnung durch eine Meßfeldblende in der Eintrittsebene des Monochromators ausgeblendet. Infolge der punktförmigen Objektbeleuchtung ist eigentlich eine zusätzliche Festlegung des Meßortes durch eine Blende nicht erforderlich. Wie in Abb. 4.8 jedoch angedeutet ist, sorgt eine geeignete Meßfeldblende in der

Zwischenbildebene des Mikroskops dafür, daß das vom Meßort ausgehende Nutzsignal vollständig in den Meßkanal gelangt, während fast der gesamte Raumwinkelanteil des im Objektiv und im Strahlteiler erzeugten Streulichtes ausgeblendet wird.

4.4.2 Streulicht aus der Probe

Die beschriebene Meßfeldblende hat auch einen Einfluß auf die Unterdrückung von Störlicht, welches in der Probe, jedoch außerhalb des interessierenden Meßvolumens entsteht.

Betrachten wir zur Veranschaulichung dieses Sachverhalts das Strahlprofil des Lasers nach Abb. 4.2 und den Strahlverlauf im Mikroskop nach Abb. 4.8. Bei der Fokussierung der Laserstrahlung mit Hilfe des Objektivs ergibt sich im Bereich der Fokusebene ein Strahlprofil nach der Beziehung:

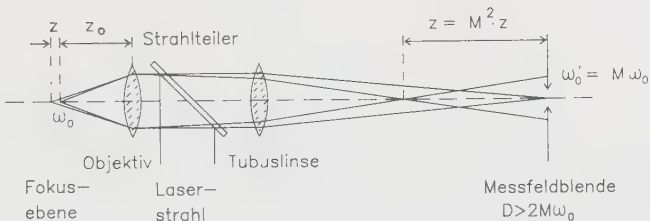


Abb. 4.8: Strahlenverlauf im Mikroskop bei der Fokussierung von Laserstrahlung in die Ebene z_0 . Licht, welches außerhalb dieser Ebene entsteht, wird von der Meßblende in der Zwischenbildebene stark unterdrückt.

$$(4.27) \quad \omega(z) = \omega_0 \left[1 + \left(\frac{\tan \theta \cdot z}{\omega_0} \right)^2 \right]^{1/2}$$

Die Ramanstrahlung, die vom Fokusbereich z_0 in der Objektebene ausgeht und vom Objektiv erfasst wird, kann die Meßfeldblende in der Zwischenbildebene ungehindert passieren. Dagegen wird Licht, welches von anderen Probenbereichen ausgeht, von dieser Blende größtenteils abgeblockt.

Der relative Wirkungsgrad für den Strahlungsfluß in Abhängigkeit vom Entstehungsort z kann wie folgt beschrieben werden: Sei z der relative Abstand des Entstehungsortes von der Fokusebene und sei $z \ll z_0$, dann gilt:

$$(4.28) \quad \frac{S(z)}{S(0)} = \frac{\pi \cdot \omega_0'^2}{\pi \cdot \omega_0'^2} = \left[1 + \left(\frac{\tan \theta' \cdot z'}{\omega_0'} \right)^2 \right]^{-1}$$

Aus den geometrischen Abbildungsgleichungen ergeben sich die Beziehungen: $M = f_2/f_1$, $\tan \theta' = \tan \theta/M$, $z' = z \cdot M^2$ und $\omega_0' = \omega_0 \cdot M$. Damit läßt sich der Wirkungsgrad als Funktion von z, θ und ω_0 ausdrücken. Es ergibt sich:

$$(4.29) \quad \frac{S(z)}{S(0)} = \left[1 + \left(\frac{\tan \theta \cdot z}{\omega_0} \right)^2 \right]^{-1}$$

Dieser Zusammenhang ist für verschiedene Objektivaperturen in Abb. 4.9 dargestellt. Man erkennt, daß insbesondere mit Objektiven hoher Apertur eine gute Unterdrückung von Störlicht aus Probenbereichen außerhalb der Fokusebene erzielt wird. Damit ergibt sich die Möglichkeit, Untergrundstrahlung aus dem Substrat und von Verunreinigungen in der Probe durch das Meßsystem abzublocken. Dies ist ein großer Vorteil des mikroskopischen Meßverfahrens, der sich besonders bei Untersuchungen an Proben mit fluoreszierenden Verunreinigungen auswirkt.

Die meisten Probleme bei der Untersuchung von Polymeren mit makroskopischen Streuanordnungen treten dann auf, wenn punktuelle Verunreinigungen einen hohen Fluoreszenzuntergrund erzeugen. Bei diesen Systemen wird in der Regel ein Meßfeld mit einem Durchmesser von ca. 200 μm beleuchtet. Dabei ergibt sich ein effektives Meßvolumen von ca. 1 mm^3 . Das Nutzsignal ist in diesem Fall deutlich höher als beim mikroanalytischen Aufbau (s. Gleichung 4.3), geringste fluoreszierende Verunreinigungen im erfassten Probenbereich ergeben jedoch einen hohen Signaluntergrund, der die Erkennbarkeit des Ramansignals deutlich herabsetzt.

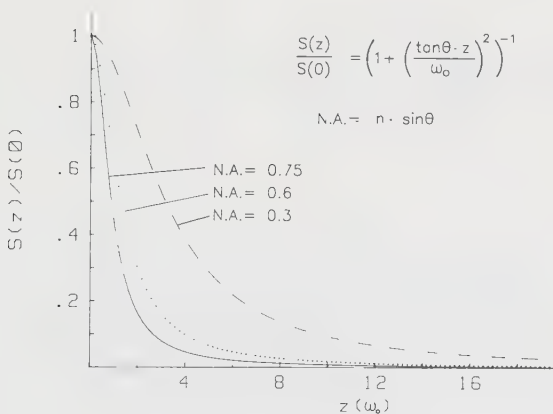


Abb. 4.9: Wirkungsgrad des Meßsystems für die Erfassung von Licht aus Bereichen außerhalb der Fokusebene. N.A. bezeichnet die numerische Apertur des Objektivs, z den Abstand von der Fokusebene.

Da der Wirkungsgrad für die Streulichtunterdrückung mit Zunahme der Meßfeldgröße stark abnimmt, scheitern auch Versuche, zur Bilddarstellung ein großes, spektral gefiltertes Bildfeld zu übertragen /41/. Die Nachweisesempfindlichkeit wird in diesem Fall, wie bei den makroskopischen Systemen, von der Höhe des Störlichtuntergrundes und nicht von der Empfindlichkeit des Meßsystems bestimmt.

Eine Abschätzung des effektiven Meßvolumens in Abhängigkeit von den Fokussierbedingungen liefert folgendes Ergebnis:

Mit der Beziehung

$$(4.30) \quad \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{1}{1+x} dx = \pi$$

folgt für das effektive Probenvolumen:

$$(4.31) \quad V = \pi \cdot \omega_0^2 \int_0^{\infty} \left(1 + \left(\frac{\tan \theta \cdot z}{\omega_0} \right)^2 \right)^{-1} dz$$

$$= \frac{\pi \cdot \omega_0^3}{2 \cdot \tan \theta}$$

Dieses Probenvolumen ist in Tabelle 4.2 zusammen mit anderen charakteristischen Parametern für eine Fokussierung der Laserstrahlung mit verschiedenen Objektiven dargestellt. Man erkennt, daß bereits mit einem Objektiv der Apertur 0,75 ein Fokusdurchmesser unter 1 μm erreicht werden kann.

Da für die Fokussierung der Laserstrahlung und für die Abbildung des Meßortes dasselbe Objektiv verwendet wird, bleibt auch bei einem Objektivwechsel die Anpassung der Meßfeldblende an das Meßfeld erhalten. Man kann deshalb zur Variation der Auflösung und Empfindlichkeit das Objektiv wechseln, ohne daß weitere Eingriffe in die Meßanordnung erforderlich sind.

Objektiv	Fokusedurchmesser (μm)	Bestrahlungsstärke (W/cm^2)	Volumen (μm^3)
Neofluar 6/0.2	4.72	$7 \cdot 10^3$	320
" 10/0.3	3.28	$2 \cdot 10^4$	70
" 16/0.4	2.16	$5 \cdot 10^4$	14
" 25/0.6	1.42	$1 \cdot 10^5$	2.4
" 40/0.75	0.90	$3 \cdot 10^5$	0.4
" 63/1.25	0.56	$7 \cdot 10^5$	0.05
" 100/1.25	0.38	$2 \cdot 10^6$	0.02

Strahldivergenz: 0.2 mrad

Strahldurchmesser: 4 mm

Laserleistung: 1.8 mW

Tabelle 4.2: Charakteristische Parameter des Meßaufbaues
in Abhängigkeit vom Objektiv bei einer Laser-
leistung von 1,8 mW und einer Strahldivergenz
von 0,2 mrad.

5. Meßergebnisse und Diskussion

Die bisherigen Ausführungen haben gezeigt, daß mit dem Meßverfahren eine Analyse von Substanzmengen im Piktogramm-bereich möglich ist. Dies gilt besonders für Proben mit geringer Absorption und hoher Wärmeleitfähigkeit. Im vorliegenden Abschnitt wird die Leistungsfähigkeit des Verfahrens anhand verschiedener Anwendungsbeispiele untermauert, und es wird gezeigt, daß mit Hilfe des Verfahrens neue Erkenntnisse über den Ablauf von biologischen Abbauvorgängen an Implantatwerkstoffen erhalten werden.

5.1 β -Carotin

Es wurde bereits ausgeführt, daß Chromophore infolge des Auftretens von Resonanzeffekten eine besonders starke Ramanstreuung zeigen und folglich auch in geringen Konzentrationen nachweisbar sind. In Abb. 5.1 ist das Ramanspektrum von β -Carotin als Reinsubstanz und in einer Karotte dargestellt. Man erkennt, daß beide Spektren übereinstimmen und daß die Umgebung keinen meßbaren Einfluß auf das Spektrum ausübt. Durch die Registrierung der sehr starken Schwingungsbande bei 1530 cm^{-1} kann die Verteilung des Carotins in der Karotte dargestellt werden. Abb. 5.2 zeigt, daß sich das Carotin hauptsächlich in den Zellwänden anlagert und keinesfalls homogen verteilt ist. In der Abbildung ist ebenfalls die hohe Unterdrückung von Streulicht aus tieferen Bereichen im Karottenanschnitt erkennbar. In der Abbildung heben sich die Innenbereiche der Zellen deutlich von den Wänden ab und es ist ein hoher Bildkontrast erkennbar. Infolge der sehr langen Meßzeit ist nicht nur eine ja/nein Entscheidung über das Vorhandensein von β -Carotin möglich, sondern anhand der Grauwerte im Bild können auch grob quantitative Aussagen gemacht werden.

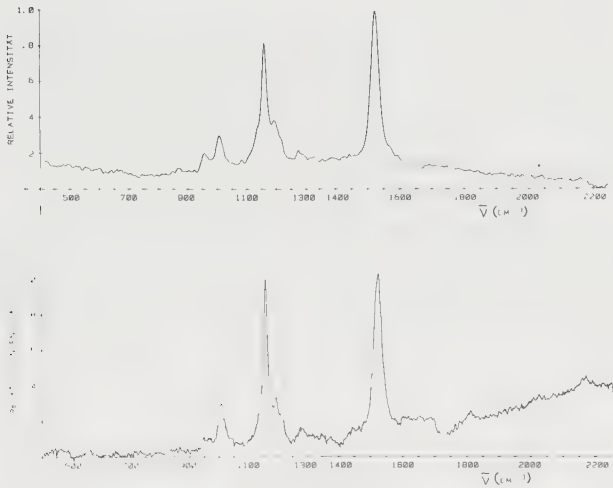
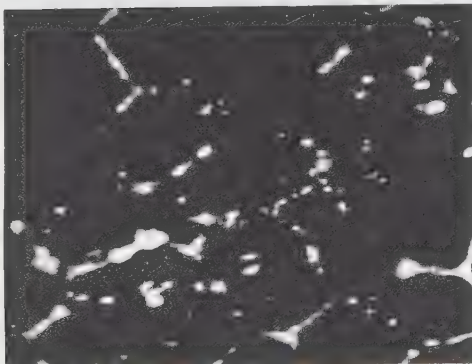


Abb. 5.1: Ramanspektren von β -Carotin als Reinsubstanz (oben) und in einer Karotte (unten). Die Laserleistung betrug 0,1 mW bei einer Registrierdauer von 30 s pro Spektrum.



$\tilde{\nu} = 1530 \text{ cm}^{-1}$
 $P = 0.1 \text{ mW}$
 $\lambda_0 = 488 \text{ nm}$
 Messzeit 30 min
 128x128 Bildpunkte
 Spotdurchmesser $3 \mu\text{m}$

Abb. 5.2: Ramanspektroskopische Darstellung der Verteilung von β -Carotin in einer Karotte. Die Meßzeit für das gesamte Bild mit 128 x 128 Bildpunkten betrug 30 min.

5.2 Verunreinigungen

Die Analyse und Identifizierung von Verunreinigungen spielt eine wichtige Rolle bei der Qualitätsprüfung von Werkstoffen. Für derartige Anwendungen ist die Raman-mikroanalyse wegen der hohen örtlichen Auflösung und Spezifität besonders geeignet.

In Abb. 5.3 ist die Analyse einer Verunreinigung auf einem Polyethylenwerkstück dargestellt. Bereits anhand des Raman-spektrums ist eine eindeutige Identifizierung als MoO_3 möglich. Die Meßzeit für die Registrierung des Spektrum betrug 30 s.

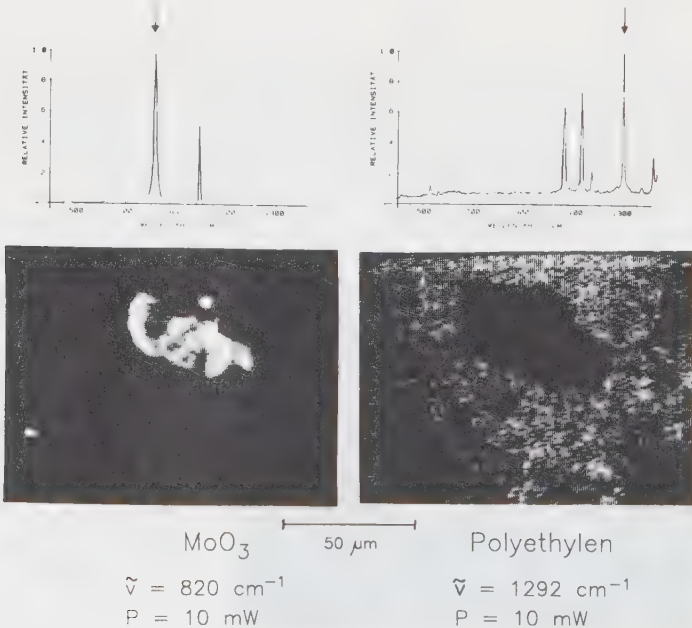


Abb. 5.3: Analyse eines MoO_3 -Teilchens auf einem Polyethylenwerkstück. Durch die Registrierung der mit einem Pfeil markierten Schwingungsbande ergibt sich die Verteilung der zugehörigen Substanz. Die Meßzeit für ein Spektrum betrug 30 s, für ein Bild mit 128×128 Bildpunkten ca. 30 min.

Die genaue Form des Molybdänoxydteilchens kann anhand der Verteilungsbilder bestimmt werden. Bei einer Registrierung im Bereich der sehr starken MOO_3 Schwingungsbande bei 820 cm^{-1} hebt sich das Teilchen sehr stark von der Matrix ab. Dagegen ist bei einer Bilddarstellung im Spektralbereich einer Schwingungsbande des Polyethylens das Grundmaterial als helle Umgebung der Verunreinigung zu erkennen. Die Laserleistung betrug bei diesen Messungen 10 mW , dies ergibt bei einem Spotdurchmesser von $3\text{ }\mu\text{m}$ eine Bestrahlungsstärke von $1,5 \cdot 10^5\text{ W/cm}^2$. Man kann deshalb davon ausgehen, daß die lokale Erwärmung während der Messung nicht höher als 20 K war.

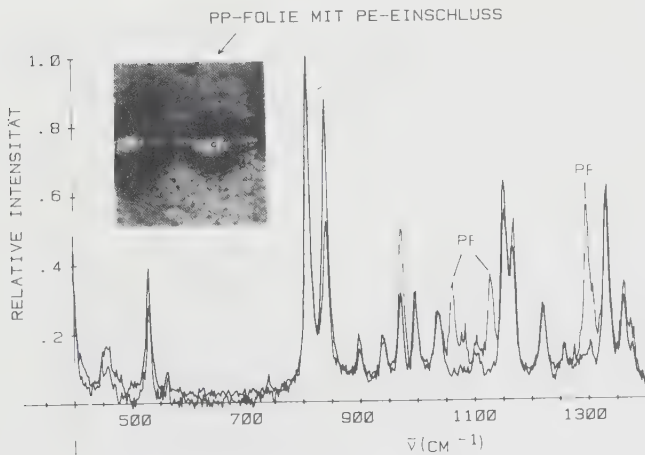


Abb. 5.4: Mikroanalyse eines Einschlusses in einer Polypropylenfolie (PP). Die zusätzlichen Banden bei 1070 cm^{-1} , 1130 cm^{-1} und 1295 cm^{-1} im Bereich der Einschlußstelle zeigen, daß die Verunreinigung durch Polyethylen-Bruchstücke verursacht wird.

In Abb. 5.4 ist eine andere Anwendung des Meßverfahrens aus dem Bereich der Qualitätsprüfung von Polymerwerkstoffen dargestellt. In diesem Beispiel wird ein mikroskopischer Einschuß in einer Polypropylenfolie (PP) ramanspektroskopisch analysiert. Das Spektrum der Einschußstelle zeigt gegenüber dem Spektrum des Grundmaterials drei zusätzliche Banden bei 1070 cm^{-1} , 1130 cm^{-1} und 1295 cm^{-1} . Dabei handelt es sich um Schwingungsbanden des Polyethylens (vgl. Tab.51.). Diese Identifizierung gelingt ohne eine Probenaufbereitung und -zerstörung bei einer Auflösung im Bereich von $1\text{ }\mu\text{m}$.

5.3 Polyethylen

Hochdichtes Polyethylen (HDPE) wird im klinischen Bereich für Spritzen, Drainagen und als Pfannenmaterial für künstliche Hüftgelenke eingesetzt. Dieser Anwendungsbereich bedingt auch eine starke mechanische Beanspruchung des Materials, sodaß dieses einem kombinierten chemisch-mechanischen Angriff ausgesetzt ist.

Das Ramanspektrum von Polyethylen (s. Abb. 5.5) zeigt im Bereich um 2860 cm^{-1} zwei sehr starke Banden, von denen die niederfrequentere den symmetrischen CH_2 Valenzschwingungen zugeordnet werden kann. Im unteren Frequenzbereich sind 2 Banden bei 1070 cm^{-1} und 1130 cm^{-1} erkennbar, die den symmetrischen und antisymmetrischen Valenzschwingungen der zick-zackförmig angeordneten Kohlenstoffketten entsprechen. Weitere Schwingungsbanden bei 1300 cm^{-1} und im Bereich um 1460 cm^{-1} werden durch Deformationsschwingungen der CH_2 -Gruppen verursacht. Die Zuordnung der wichtigsten Schwingungsbanden des Polyethylens ist in Tabelle 5.1 zusammengestellt /42/.



Abb. 5.5: Ramanpektren von hochkristallinem Polyethylen (oben) und von stark verzweigtem Polyethylen (unten). Die Unterschiede im Kristallinitätsgrad sind besonders deutlich an der Breite der Schwingungsbanden bei 1070 cm^{-1} und 1295 cm^{-1} sowie am unterschiedlichen Intensitätsverhältnis des Bandenpaares $2884\text{ cm}^{-1}/2848\text{ cm}^{-1}$ zu erkennen. Die Intensität der Bande bei 890 cm^{-1} ist ein schwaches Indiz für das mittlere Molekulargewicht der Probe.

$\bar{\nu} (\text{cm}^{-1})$	Beschreibung der Schwingungsform	
2932	$V_{\text{as}} \text{CH}_2$	Valenzschwingungen und Fermi-Resonanz Wechselwirkungen mit den ersten Oberschwingungen und Kombinationen der $\bar{\delta}_{\text{as}} \text{CH}_2$ und $\bar{\delta}_{\text{s}} \text{CH}_2$ Deformationsschwingungen
2905		
2884		
2848		
1461	$\bar{\delta}_{\text{s}} \text{CH}_2$	Deformationsschwingungen und Fermi-Resonanz Wechselwirkungen mit den ersten Oberschwingungen und Kombinationen der CH_2 - Rockingschwingung bei 725 cm^{-1}
1440		
1418		
1370	CH_2	-Wagging Schwingung
1296	CH_2	-Twisting Schwingung
1170	CH_2	-Rocking Schwingung
1131	V_{s}	C-C
1080		bei amorphen Proben
1063	V_{as}	C-C
890		Indikator für Molekulargewicht

Tabelle 5.1: Zuordnung der wichtigsten Ramanschwingungsbanden des Polyethylens zu den einzelnen Schwingungsformen.

Anhand der Lage und Intensität dieser Banden ist eine eindeutige Identifizierung des Materials möglich. Darüber hinaus werden jedoch noch weitere Aufschlüsse über charakteristische Eigenschaften der Probe z.B. Kettenlängen, Verzweigungsgrad, Kristallinität, mittleres Molekulargewicht und Gehalt an Endgruppen erhalten. In der Abbildung erkennt man, daß das hochdichte und sehr kristalline Material schmale Schwingungsbanden zeigt, während bei der verzweigten Probe breitere Linien beobach-

tet werden. Allgemein gilt, daß eine Reduzierung der dreidimensionalen Ordnung eines Festkörpers zu neuen und teilweise verbreiterten Linien führt.

Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Ramanspektren besteht in der Intensität und Lage der Banden bei 1460 cm^{-1} und 2884 cm^{-1} . Diese Banden entsprechen nicht einer Normalschwingung des Moleküls, sondern sie entstehen durch Fermi-Resonanz. Diese wird immer dann beobachtet, wenn eine in der Regel schwache Kombinations- oder Oberschwingung mit einer Grundschiwingung derselben Schwingungsrasse frequenzmäßig fast zusammenfällt. Dies ergibt eine Verstärkung der schwachen Schwingung, sodaß beide Schwingungen mit nahezu gleicher Intensität beobachtet werden können. Die Intensität gerade dieser Banden ist ein sehr empfindlicher Parameter für die Wechselwirkungen im Kristallgitter, denn eine Änderung der Wechselwirkungen im Kristall bewirkt, daß sich der Frequenzabstand der Kombinations- oder Oberschwingungen zu den entsprechenden Grundschiwingungen ändert und die Fermi-Resonanz dadurch verstärkt oder abgeschwächt wird.

Der Einfluß anderer Probeneigenschaften auf das Spektrum ist nicht so deutlich zu erkennen. So bietet die Intensität der sehr schwachen Bande bei 890 cm^{-1} einen Anhaltspunkt für das mittlere Molekulargewicht der Probe. Man erkennt, daß die Intensität dieser Bande bei der verzweigten Probe höher ist als beim hochkristallinen Material. Auf diese Weise kann grob zwischen einem Molekulargewicht von 10^2 und 10^5 g/Mol unterschieden werden. Da die Bande beim kristallinen Material verschwindet, sind Unterschiede zwischen 10^5 und 10^4 g/Mol nicht erkennbar.

Dieses Anwendungsbeispiel zeigt, daß insbesondere anhand von kleinen Unterschieden im Ramanspektrum qualifizierte Aussagen über unterschiedliche Wechselwirkungen in den Proben möglich sind. Entsprechende Messungen wurden auch an Polyethylenproben vorgenommen, die mechanisch bearbeitet

und 9 Monate subkutan in einer Ratte implantiert waren. Bei dem Material handelt es sich um Polyethylen hoher Dichte (HDPE), das unter dem Handelsnamen RCH 1000 erhältlich ist und vorwiegend für Hüft- und Kniegelenkprothesen verwendet wird.

Die lichtmikroskopischen Abbildungen der untersuchten Probenoberflächen zeigen, daß nach der mechanischen Bearbeitung und Formgebung deutliche Drehriefen vorhanden sind (Abb. 5.6). Beim Explanat scheint die Oberflächenrauigkeit geringer zu sein als vor der Implantation.

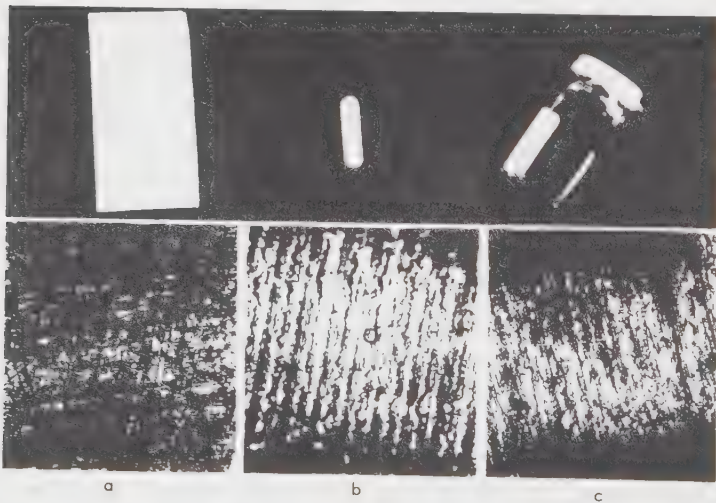


Abb. 5.6: Abbildung (oben) und Oberflächenstruktur (unten) verschiedener Polyethylenproben. An den markierten Stellen wurden die in Abb.5.7 dargestellten Ramanspektren aufgenommen.

- a) Rohmaterial (RCH 1000)
- b) mechanisch bearbeitetes Material
- c) nach 9-monatiger subkutaner Implantation in einer Ratte.

Das Ergebnis der ramanspektroskopischen Untersuchungen ist in Abb. 5.7 dargestellt. Das Intensitätsverhältnis der beiden Schwingungsbanden bei 2848 cm^{-1} und 2884 cm^{-1} beträgt beim Rohmaterial etwa 0,63. Es steigt nach der mechanischen Formgebung auf 0,75 an und geht beim Explanat wieder auf 0,65 zurück. Weitere Unterschiede zwischen den Spektren sind an der Doppelbande bei 1130 cm^{-1} zu erkennen. Dabei handelt es sich um eine Korrelationsaufspaltung der C-C Valenzschwingungsbande. Alle Veränderungen werden durch unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen den Molekülketten hervorgerufen und können folgendermaßen interpretiert werden:

Im Festkörper bewirkt die intermolekulare Wechselwirkung den Aufbau kristalliner Mizellen. Falls nun die Symmetrie der Einheitszelle im Kristall von der Symmetrie des isolierten Kettenmoleküls abweicht, äußert sich dies in einer Linienverschiebung und man beobachtet Dubletts /25/. Beim Polyethylen befinden sich jeweils zwei Ketten in einer Einheitszelle, wobei die Ebenen der zick-zackförmig angeordneten Kohlenstoffatome senkrecht aufeinander stehen.

Die Dubletts entsprechen den Schwingungen benachbarter Ketten in Phase und in Gegenphase. Die beobachteten Veränderungen der Dubletts bei 1130 cm^{-1} und der durch Fermi-Resonanz entstandenen Bande bei 2884 cm^{-1} zeigen, daß sich die Wechselwirkungen zwischen den Molekülketten im Festkörper durch die mechanische Bearbeitung und während der Implantation verändert haben. Diese Veränderungen können auf folgende Effekte zurückgeführt werden:

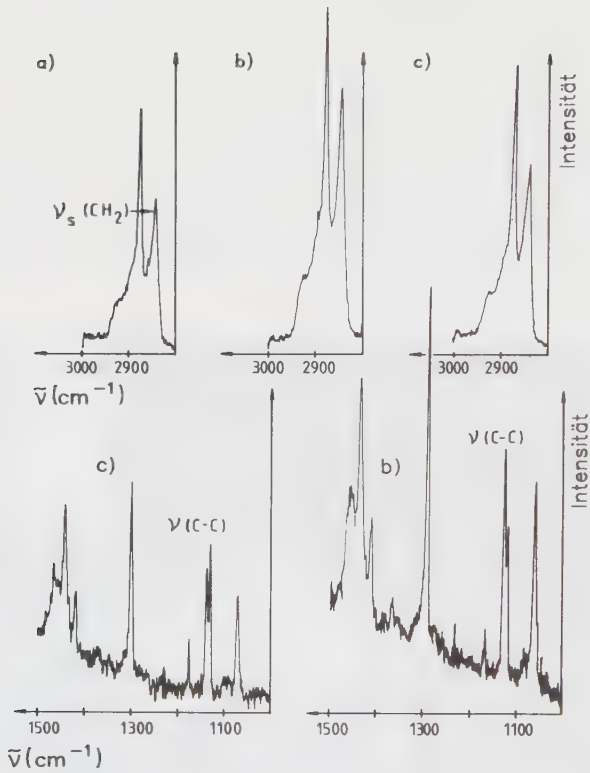


Abb. 5.7: Ramanspektren von Oberflächenbereichen der in Abb. 5.6 dargestellten Polyethylenproben.

- a) Rohmaterial (RCH 1000)
- b) mechanisch bearbeitetes Material.
- c) nach 9-monatiger subkutaner Implantation in einer Ratte.

Durch die mechanische Bearbeitung werden an der Oberfläche Kettenbrüche hervorgerufen und der Verzweigungs- und Kristallinitätsgrad ändert sich. Im Körper werden diese geschädigten Probenbereiche bevorzugt abgebaut und es entsteht wieder eine Oberfläche, die die Eigenschaften des Grundmaterials besitzt /43/. Dieser Vorgang ist mit einer leichten Zunahme der Dichte des Materials verbunden, was teilweise auch von anderen Autoren beobachtet wurde /44,45/.

5.4 Polyurethan

Die erstmalige Verwendung des Kunststoffes Polyurethan als Isoliermaterial für Elektroden von künstlichen Herzschrittmachern im Jahre 1978 wurde als Meilenstein in der Entwicklung von Schrittmacherelektroden gefeiert /46/. Als besondere Vorteile dieses Werkstoffes wurde die gegenüber dem bis dahin verwendeten Polydimethylsiloxan (PDMS) höhere Zug- und Reißfestigkeit sowie ein um den Faktor 20 geringerer Reibungskoeffizient aufgeführt. Dadurch war es möglich, die Wandstärke und damit den Durchmesser der Elektroden deutlich zu verringern.

In der Folgezeit wurden jedoch Oberflächenrisse an diesem Material beobachtet, die teilweise zu einer Zerstörung der Isolation führten /47,48/. Es entwickelte sich eine Diskussion über Ausmaß und Ursachen dieses Effektes, wobei ein biologischer Abbau /49/ und eine mechanische Zerstörung der Probenoberfläche postuliert wurde /50/. Allein in der Ausgabe September 1983 der Fachzeitschrift PACE befassten sich 5 Artikel und ein Leitartikel mit diesem Problem /51,52/, und es wurde eine sorgfältige zukünftige Erfassung aller Beobachtungen vorgeschlagen. Dies dokumentiert den Stellenwert dieser Thematik und die Bedeutung einer Aufklärung der am Polyurethan stattfindenden Veränderungen.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde ein Material ausgewählt, das bisher bereits für die beschriebene Anwendung verwendet wurde. Es ist unter dem Handelsnamen Pellethane 2363 erhältlich und lag in folgenden Ausführungen vor:

1. Pellethane 2363-80A

Innendurchmesser: 1,0 mm

Wandstärke: 0,25 mm

2. Pellethane 2363-55D

Innendurchmesser: 1,27 mm

Wandstärke: 0,13 mm

Ca. 1-2 cm lange Schlauchstücke wurden in isotoner Kochsalzlösung bei 60° C gelagert und in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer der Lösung untersucht.

Zur Beurteilung der Oberflächenbeschaffenheit wurden die Proben nach 1000 bzw. 2000 Std. entnommen, mit destilliertem Wasser gereinigt und getrocknet. Anschließend wurden sie direkt ramanpektroskopisch analysiert oder mit einer 15 nm dicken leitfähigen Goldschicht überzogen und im Rasterelektronenmikroskop im Hinblick auf eine eventuelle Rißbildung untersucht.

Es zeigte sich, daß die Oberfläche des mit Shore 55D härteren Materials nach einer Lagerung von 2000 Std. noch völlig unbeschädigt ist (s.Abb. 5.8). Beim weicheren Material mit Shore 80A ist bereits nach einer Einwirkungsdauer von 1000 Std. und ohne eine mechanische Beanspruchung eine Rißbildung an der Oberfläche zu erkennen. Die Schlauchproben waren bei der Abbildung so orientiert, daß sie von oben nach unten verlaufen. Dies bedeutet, daß die Rißbildung überwiegend quer zur Schlauchrichtung verläuft. Die Risse sind nach 2000 Std. noch deutlicher ausgebildet und erreichen eine Breite und Tiefe von jeweils etwa 0,5 µm.

Pellethane 2363 Shore 80A

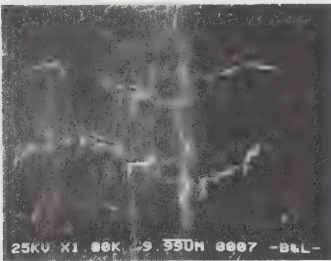


0 Std

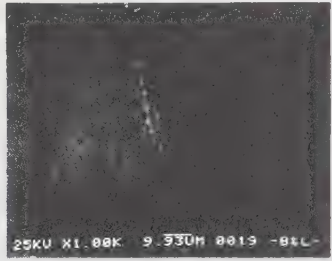
Pellethane 2363 Shore 55D



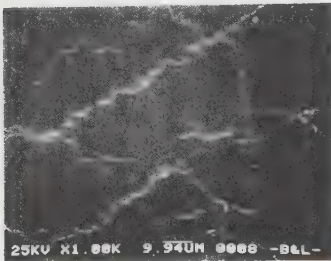
0 Std



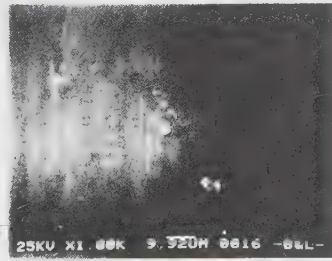
1000 Std



1000 Std



2000 Std



2000 Std

Abb. 5.8: Rasterelektronenmikroskopische Abbildung der Oberflächen von Shore 55D (rechts) und Shore 80A (links) Polyurethan in Abhängigkeit von der Lagerung in isotoner NaCl-Lösung bei 60° C. Bei der weicheren Probe ist bereits nach 1000 Std. eine Rißbildung an der Oberfläche zu erkennen, während die härtere Probe nach 2000 Std. noch stabil ist.

Genauere Aussagen über die Ursachen dieser Rißbildung werden durch ramanspektroskopische Untersuchungen erhalten. In Abb. 5.9 sind im Vergleich die Ramanspektren des härteren Materials (oben) und der etwas weiche-
ren Ausführung (unten) jeweils als Rohmaterial und nach 2000 Std. dargestellt. Für eine detaillierte Analyse der Spektren wird zuerst noch einmal auf den bereits im Abschnitt 2.2.2 dargestellten Herstellungsprozeß eingegangen.

Wie in Abb. 2.8 dargestellt ist, werden bei der Polyaddition von vernetztem Polyurethan in einem ersten Reaktionsschritt Makrodiisocyanate gebildet, wobei das Isocyanat durch den Polyäther verlängert wird. In einem zweiten Reaktionsschritt werden die Ketten durch Bildung von Urethan- und Allophangruppen verknüpft und vernetzt. Dies ergibt eine Ausbildung von leicht beweglichen Weichsegmenten neben relativ unbeweglichen Hartsegmenten. Beim Pellethane 2363 wird als Ausgangsmaterial Polytetramethylenätherglycol in Verbindung mit p,p'-Diphenylmethandiisocyanat und 1,4-Butandiol verwendet /32/. Bei der Polyaddition entsteht ungefähr die in Abb. 5.10 dargestellte Struktur. Die Hartsegmente werden von den kurzen Urethanketten, die Weichsegmente von dem relativ langkettigen Polyäther gebildet. Die Beweglichkeit der Weichsegmente beruht auf der Drehbarkeit der CH_2 -Kettenglieder um ihre Verbindungsachse.

Diese Struktur wird durch das Ramanspektrum bestätigt, wobei die wichtigsten Banden im Spektrum folgendermaßen zugeordnet werden können:

Im Ramanspektrum dominieren die scharfen Schwingungsbanden des disubstituierten Benzolringes der Isocyanatkomponente

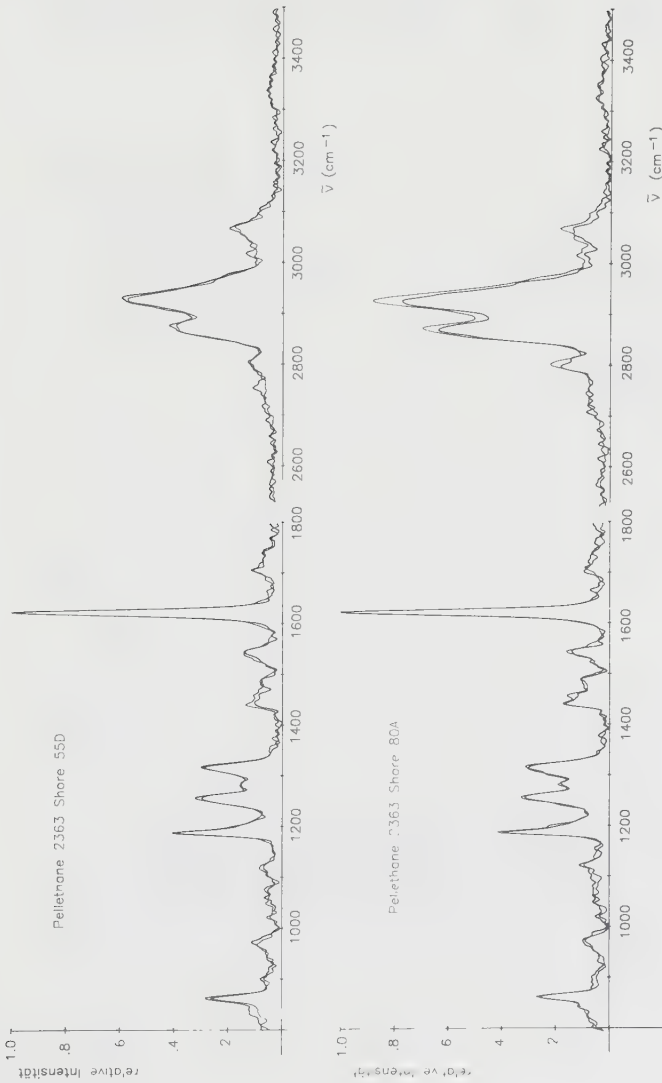


Abb.5.9: Ramanspektren von Pellethane 2363-55D (oben) und -80A (unten) jeweils als Rohmaterial und nach 2000 h in isotoner NaCl-Lösung. Die Zuordnung der Banden und die Interpretation der Spektren erfolgt im Text.

bei 1618 cm^{-1} und der symmetrischen und antisymmetrischen CH-Valenzschwingungen der CH_2 -Gruppe bei 2870 cm^{-1} und 2920 cm^{-1} . Diese letztgenannten Schwingungen werden von den sehr langen Polyätherketten hervorgerufen. Die Deformationsschwingungen dieser Gruppe liegen zwischen 1420 cm^{-1} und 1450 cm^{-1} , sowie bei 1295 cm^{-1} .

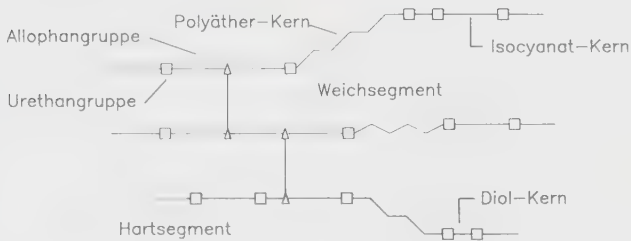
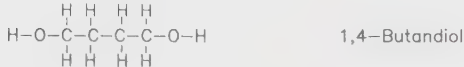
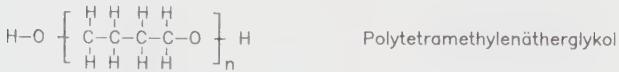
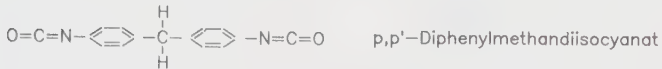


Abb. 5.10: Schematische Darstellung der Ausgangsstoffe für die Herstellung des Pellethane 2363 und der Struktur des Polyurethans. Die verschiedenen Hart- und Weichsegmente sind über Urethan- und Allophangruppen miteinander verknüpft.

Weitere wichtige Banden sind die N-H Valenzschwingung bei 3340 cm^{-1} und zwei typische Banden der Urethangruppe, die Amid I Schwingung bei 1710 cm^{-1} und die Amid II Schwingung bei 1540 cm^{-1} , die gekoppelte Valenzschwingungen der CO- bzw. der CN-Gruppe mit den NH-Deformationen sind.

Der Benzolring zeigt eine Reihe von Valenz- und Deformationsschwingungen, deren Lage und Intensität auch von dem Substitutionsmuster bestimmt wird. Neben der bereits erwähnten Valenzschwingung des Ringes bei 1618 cm^{-1} zeigt die Abwesenheit einer starken Bande im Bereich um 1000 cm^{-1} die p-Disubstitution an. Der hohe Isocyanatanteil im Polymer wird durch die hohe Intensität der Banden bei 870 cm^{-1} und zwischen 1190 cm^{-1} und 1320 cm^{-1} unterstrichen. Diese Banden können den Deformationsschwingungen des Ringes und der CH-Gruppe des Ringes zugeordnet werden. Die CH-Valenzschwingungen sind sehr gut bei 3080 cm^{-1} beobachtbar.

Die Äthergruppe (C-O-C) zeigt eine Gleichtakt- und eine Gegentaktvalenzschwingung bei 980 cm^{-1} bzw. 1130 cm^{-1} . Charakteristisch ist auch die sehr hohe Lage der CH_2 -Deformationsschwingungen bei 1480 cm^{-1} .

Ein Vergleich der Spektren in Abb. 5.9 zeigt, daß die Intensität der CH-Valenzschwingungen im Bereich um 2900 cm^{-1} beim Pellethane 2363-80A höher ist als beim Pellethane 2363-55D. Dies zeigt, daß das erstgenannte Material einen höheren Polyätheranteil besitzt. Dies ergibt in Verbindung mit der Drehbarkeit der zick-zackförmig angeordneten CH_2 -Kettenglieder um ihre Verbindungsachse eine höhere Flexibilität dieses Materials. Die künstliche Alterung in isotoner NaCl-Lösung führt zu einem leichten Rückgang der Intensität der CH_2 -Valenzschwingungen, was auf geringe Veränderungen im Bereich der Polyätherketten hinweist.

Im Gegensatz dazu ist beim Material mit Shore 55D innerhalb des Beobachtungszeitraumes keine nennenswerte Veränderung der Intensität und Lage der Banden feststellbar. Der geringere Anteil der Polyätherkomponente bleibt während der Alterung ebenfalls konstant. Bei beiden Materialien ist keine Verschiebung der Banden während der Alterung zu erkennen, so daß ein chemischer Abbau oder Umbau der Ketten ausgeschlossen werden kann.

Eine Erklärung für die beobachtete Rißbildung an der Oberfläche des weicheren Materials ergibt sich jedoch aus Messungen der Polarisationsabhängigkeit der Ramanstrahlung. Wie im Abschnitt 2.1.4 bereits angedeutet wurde, liefern Polarisationsmessungen Aussagen über die Orientierung von strukturellen Einheiten in Polymeren. Man mußte bisher davon ausgehen, daß derartige Messungen nur bei sehr klaren und nicht fluoreszierenden Substanzen möglich sind /53/. Die im folgenden dargestellten Beispiele zeigen, daß aufgrund der überragenden Störlichtunterdrückung des beschriebenen Meßverfahrens Polarisationsmessungen in viel breiterem Maße möglich sind. Bei der Auswertung der Spektren muß berücksichtigt werden, daß die Polarisation der Ramanstrahlung durch Vielfachreflexionen und Unterschiede im Brechungsindex innerhalb der Probe zerstört werden kann, so daß in der Regel eine erhöhte Depolarisation gemessen wird. Dieser Effekt beeinflusst jedoch nicht Relativmessungen, d.h. Messungen, bei denen nur relative Veränderungen in der Polarisation ausgewertet werden. Der Depolarisationsgrad $\rho_s = I_{\perp} / I_{\parallel}$ (s. Abschn. 2.1.2) der Ramanstrahlung des Ausgangsmaterials mit Shore 80A liegt in der Größenordnung von 0,4 - 0,6 (s. Abb. 5.11). Dies bedeutet, daß bei der Herstellung und Formgebung nur eine geringe Ausrichtung der Molekülketten und Segmente erfolgt. Nach Lagerung

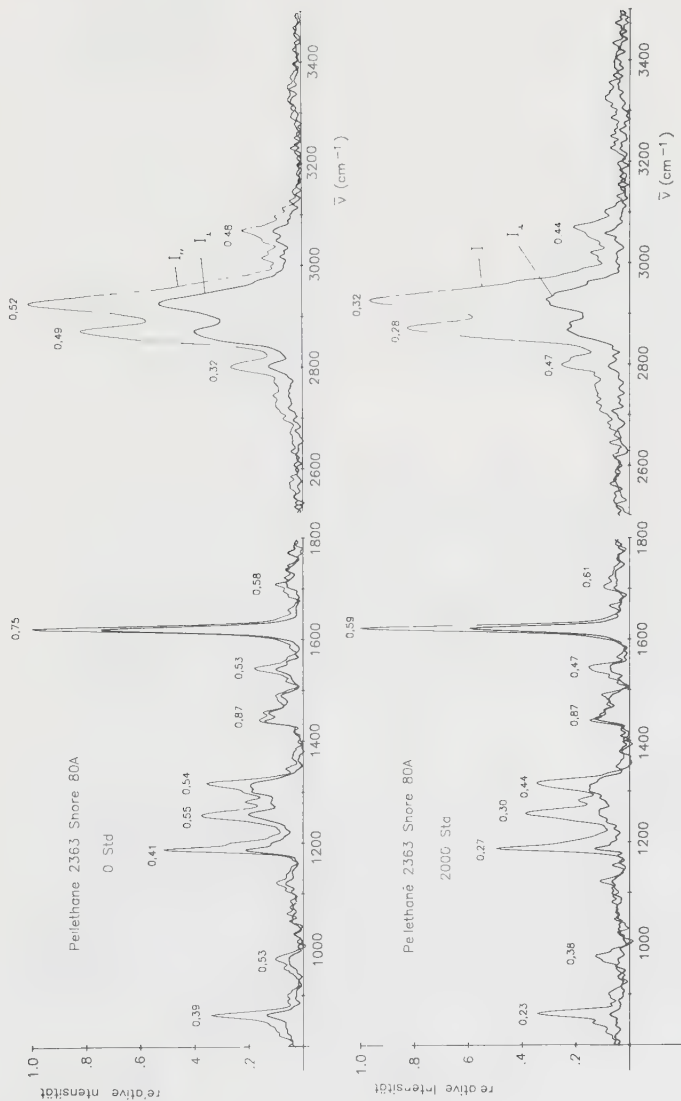


Abb. 5.11: Polarisationsabhängigkeit der Ramanintensität für Pellethane 2363-80A als Rohmaterial (oben) und nach 2000 h in isotoner NaCl-Lösung. Die Veränderungen im Depolarisationsgrad der Strahlung zeigen eine Umorientierung einzelner Probensegmente an.

in isotoner NaCl-Lösung wird eine stärkere Polarisation der Strahlung gemessen und der Depolarisationsgrad geht um ca. 20 - 40 % zurück. Dies bedeutet, daß bei diesem Material eine Umorientierung der Hart- und Weichsegmente stattfindet, die zu einem höheren Orientierungsgrad innerhalb der Probe führt.

Im Vergleich dazu liegt das härtere Material mit Shore 55D bereits in einem höheren Orientierungsgrad vor, was an dem niedrigen Depolarisationsgrad der Strahlung in der Größenordnung von 0,3 - 0,4 erkennbar ist (s. Abb. 5.12). Die Änderung im Depolarisationsgrad nach einer Lagerung von 2000 h in isotoner NaCl-Lösung liegt im Bereich von knapp 10 %. Dies bedeutet, daß bei diesem Material eine wesentlich geringere Umorientierung innerhalb der Probe stattfindet.

Die Ursachen für diese Veränderungen können aus den raman-spektroskopischen Messungen nicht eindeutig abgeleitet werden. Ein sehr geringer Intensitätsanstieg im Bereich um 3400 cm^{-1} in Abb. 5.9 (unten) sowie Abb. 5.11 (unten) beim Material mit Shore 55D deutet jedoch darauf hin, daß das Eindringen von Wasser und die damit verbundene Quellung der Probe eine Rolle spielt. Diese Vermutung wird durch ergänzende infrarotspektroskopische Messungen bestätigt.

Im Vergleich zur Ramanspektroskopie ist die Infrarotspektroskopie für den Nachweis von Wasser deutlich empfindlicher, da sich bei den OH-Valenzschwingungen des Wassermoleküls das Dipolmoment sehr stark ändert. Für die Untersuchungen wurden Schlauchstücke von ca. 2 mm Länge auf die Temperatur des flüssigen Stickstoffs abgekühlt und mechanisch mit Hilfe einer Schwingmühle zerkleinert. Anschließend

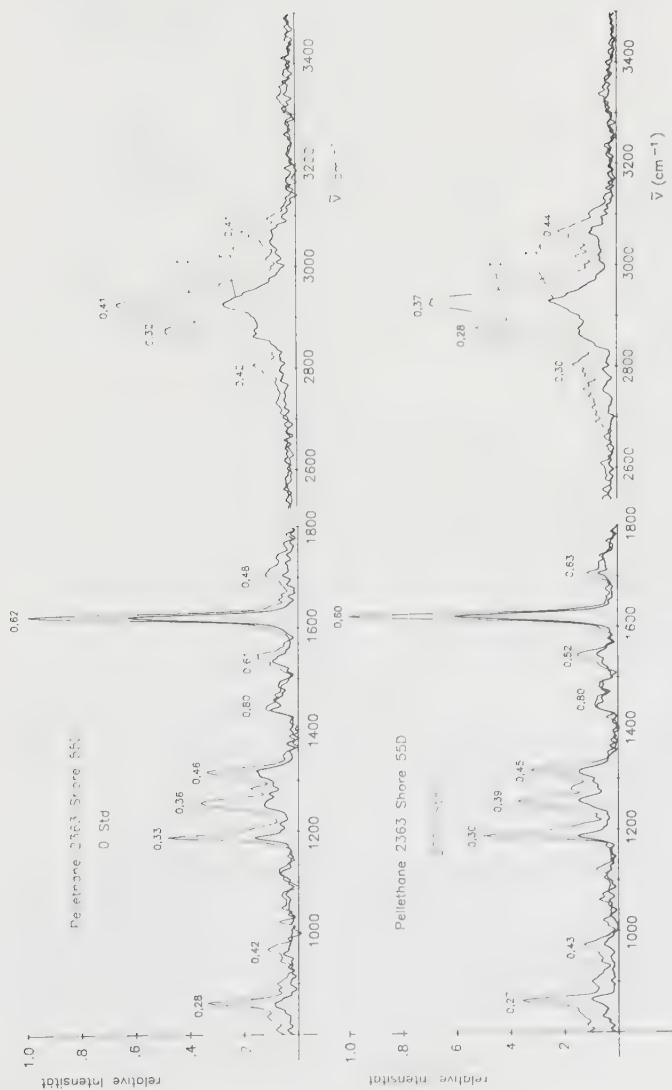


Abb. 5.12: Polarisationsabhängigkeit der Ramanintensität für Pellethane 2363-55D als Rohmaterial (oben) und nach 2000 h in isotoner NaCl-Lösung. Eine Umorientierung größeren Ausmaßes ist nicht festzustellen.

wurde das fast pulverförmige Material mit KBr zu einer ca. 1 mm dicken Tablette gepresst und das IR-Transmissionsspektrum des auf diese Weise präparierten Materials mit einem handelsüblichen Spektrometer aufgenommen.

Abb. 5.13 zeigt das Infrarotspektrum von Pellethane 2363-55D nach 2000 h in isotoner NaCl-Lösung. Im Spektrum dominieren die sehr starken Absorptionsbanden der aliphatischen Äthergruppe bei 1100 cm^{-1} und 2900 cm^{-1} , des aromatischen Isocyanats zwischen 1200 cm^{-1} und 1500 cm^{-1} sowie der Urethangruppe bei 1700 cm^{-1} (C=O) und 3330 cm^{-1} (N-H). Auch ist eine sehr schwache Bande bei 2300 cm^{-1} zu erkennen, die ein Indiz für nichtreagierte Isocyanatgruppen ist.

Von besonderer Bedeutung im Spektrum ist das Auftreten einer sehr breiten Absorptionsbande bei 3500 cm^{-1} , die auf das Vorhandensein von Wassermolekülen zurückzuführen ist (O-H Valenzschwingung). Die getrennt dargestellten Ausschnitte dieses Spektralbereichs zeigen, daß bei beiden Materialien eine Wasseraufnahme stattfindet. Damit läßt sich in Verbindung mit den raman-spektroskopischen Messungen folgendes Ergebnis formulieren:

Bei den untersuchten Polyäther-Polyurethanen Pellethane 2363-80A und -55D findet in wässriger Umgebung eine Wasseraufnahme statt. Dabei lagern sich die stark polaren H_2O -Moleküle über Wasserstoffbrücken an die ebenfalls polaren C=O und N-H Gruppen des Polyurethans an. Dies führt zu einer Quellung des Materials, ohne daß die Molekülketten in Lösung gehen. In Abhängigkeit vom Polyäthergehalt des Materials besteht eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Orientierung der Hart- und Weichsegmente der Probe. Unter dem Einfluß der Quellung findet eine Umorientierung dieser

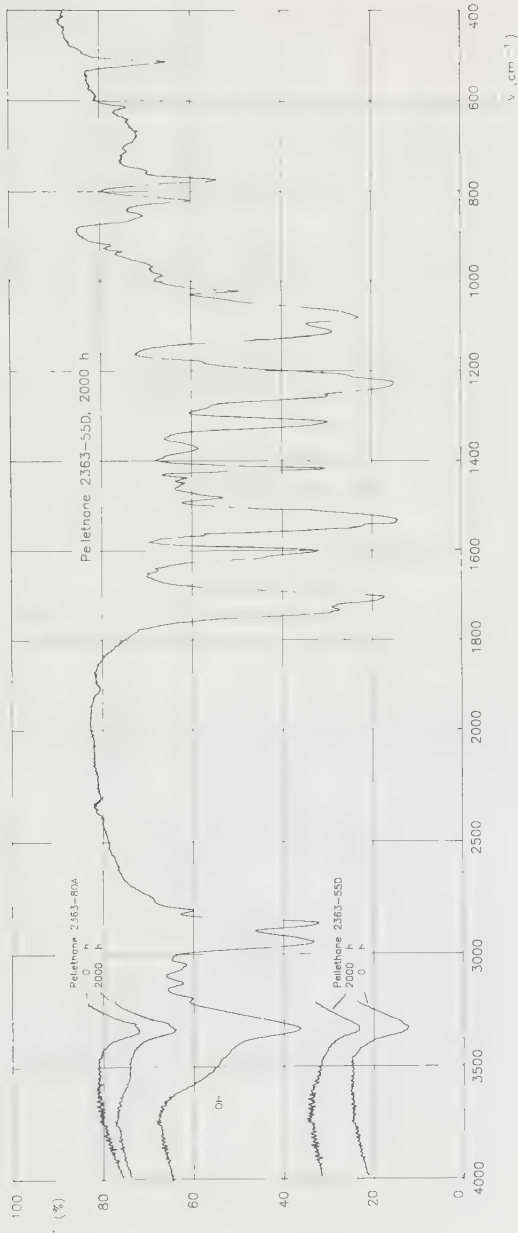


Abb. 5.13: Infrarotspektrum von Pellethane 2363-55D. Nach einer Lagerung des Materials in physiologischer NaCl-Lösung wird im Spektrum eine Absorptionsbande bei 3500 cm^{-1} beobachtet, die den OH-Valenzschwingungen entspricht und eine Wasseraufnahme des Materials anzeigt.

nicht mischbaren Segmente statt, die zu einer besonders an der Probenoberfläche ausgeprägten Spannungsrißbildung führt. Dieser Prozeß ist bei dem Material mit einem hohen Anteil an Weichsegmenten besonders deutlich zu erkennen, da hier die relative Umorientierung infolge der geringen Ausgangsordnung besonders groß ist /65/.

Mit diesem Modell können auch einige der bisher in der Literatur geschilderten Beobachtungen interpretiert werden. So ist ein besonderer Einfluß von mechanischen Belastungen auf die Rißbildung erklärbar /54/, da diese sicherlich zur Ausbildung einer Spannungsrißbildung beitragen. Maßnahmen zur Verringerung der mechanischen Belastung können die Korrosion jedoch nur verzögern, aber nicht verhindern. Auch ist nach einem vorsichtigen Tempern des Materials mit einer Abschwächung der Rißbildung zu rechnen /55/, da bei dieser Behandlung eingeprägte innere Spannungen abgebaut werden.

Aufgrund der Tatsache, daß bei den Untersuchungen auch beim härteren Material ohne mechanische Belastung eine geringe Umorientierung von Probensegmenten festgestellt wurde, ist davon auszugehen, daß bei einer langfristigen Implantation des Polyäther-Polyurethans generell mit einer Beeinträchtigung der Funktion zu rechnen ist.

6. Ausblick

Das dargestellte mikroanalytische Meßsystem zeichnet sich durch eine hohe Nachweisempfindlichkeit und Störlichtunterdrückung sowie eine hohe örtliche und spektrale Auflösung aus. Die hohe Signalqualität, insbesondere bei der rasterförmigen Bilddarstellung, ergibt ein breites analytisches Anwendungsfeld, das weit über die im Rahmen dieser Arbeit beschriebenen Anwendungen hinausreicht.

Voruntersuchungen haben z.B. gezeigt, daß bei reduzierter Laserleistung auch Ramanspektren von stark absorbierenden Proben, etwa Flammkohlen, erhalten werden können. Eine derartige Untersuchung von Kohlen könnte von wirtschaftlicher Bedeutung sein, da mit Hilfe der Ramanspektroskopie unter anderem zwischen organischen und mineralischen Anteilen schnell unterschieden werden kann und so zusätzliche Parameter zur Klassifizierung von Kohlen erhalten werden.

Eine Erweiterung des Anwendungsbereiches sollte auch durch eine Ausnutzung der oberflächenverstärkten Ramanstreuung (SERS) möglich sein. Diese Art der Resonanzverstärkung wurde bisher überwiegend an metallischen Oberflächen beobachtet, die elektrolytisch aufgeraut worden waren /56/. Diese Probenvorbereitung ist für allgemeine Anwendungen jedoch ungeeignet. Die meisten Erklärungen des Effektes gehen davon aus, daß für die Signalverstärkung ($\approx 10^6$ -fach) die Rauigkeit der Oberfläche eine bedeutende Rolle spielt. Wenn dies der Fall ist, dann muß eine Oberflächenverstärkung auch bei Molekülen nachweisbar sein, die an der Oberfläche von kolloidalen Metallteilchen adsorbiert sind /57/.

Mit dem Meßaufbau konnten Ramanspektren von Aminosäuren in kolloidalen Ag-Lösungen bis zu einer Konzentration von 10^{-4} Mol/l gemessen werden. Derartige Untersuchungen wurden zwischenzeitlich auch von Moskovits vorgeschlagen 58 und mit einem makroskopischen Meßaufbau erfolgreich durchgeführt 59/. Aktuelle theoretische Untersuchungen 60 kamen zu dem Ergebnis, daß die Oberflächenverstärkung auf eine zusätzliche Anregung der adsorbierten Moleküle durch das Nahfeld der an den Partikeln nach Lorenz-Mie gestreuten Anregungsstrahlung hervorgerufen wird.

Eine Verbesserung der mikroanalytischen Untersuchungsmöglichkeiten ist infolge der hohen Auflösung und Störlichtunterdrückung nicht nur bei der Ramanspektroskopie, sondern auch bei anderen optischen mikroanalytischen Meßverfahren zu erwarten. Ein wichtiges Forschungsgebiet in der Molekularbiologie ist die Untersuchung des Gleichgewichtes zwischen einer rechtsdrehenden (B) und linksdrehenden (Z) Helixstruktur der DNA.

Fluoreszenzmessungen an geeignet präparierten Chromosomen mit dem beschriebenen Meßaufbau ergaben erstmals quantitative Aussagen über die Korrelation der Immunfluoreszenz mit der Dichte der DNA in verschiedenen Probenbereichen und ermöglichten eine Unterscheidung zwischen der Z oder B Struktur 61/. Bei den Messungen an fixierten Riesenchromosomen wurde der Gesamtgehalt an DNA durch spezifische Bindung des Farbstoffes H-33342 ermittelt, während über FITC-markierte anti-Z DNA Antikörper ein Nachweis der Z Struktur möglich war.

Die in Abb. 6.1 dargestellten Meßergebnisse zeigen, daß der Gehalt an Antikörpern in weiten Bereichen mit der Dichte der DNA stark korreliert ist und auch über die einzelnen

Banden verhältnismäßig konstant ist. Die in der Abbildung erkennbare charakteristische Bandenstruktur der Chromosomen ergibt sich durch die parallele Ablagerung der in Längsrichtung verlaufenden spiralförmigen Einzel-fibrillen. Infolge der Vielsträngigkeit erscheinen die strukturellen Feingliederungen der Einzelfibrillen bei der mikroskopischen Abbildung als Querscheiben oder Banden.

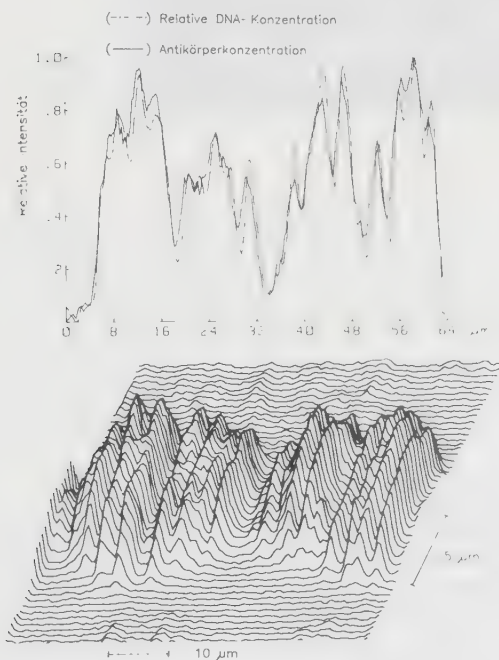


Abb. 6.1: Relative Fluoreszenzintensität von fixierten Chironomus-Riesenchromosomen. Dargestellt sind relative Immunfluoreszenz und DNA spezifische Scanprofile (oben) sowie die Intensität der Immunfluoreszenz (z-Achse) im Bereich IB1-4 (unten). Für die Spektralbereiche der Anregung und Registrierung gelten die Angaben in Abb. 6.2.

Wie in Abb. 6.2 dargestellt ist, sind jedoch auch Bereiche vorhanden, in denen im Vergleich zur DNA Konzentration eine sehr starke Immunfluoreszenz beobachtet wird. Diese Bereiche zeichnen sich durch eine sehr hohe Konzentration der Z DNA aus.

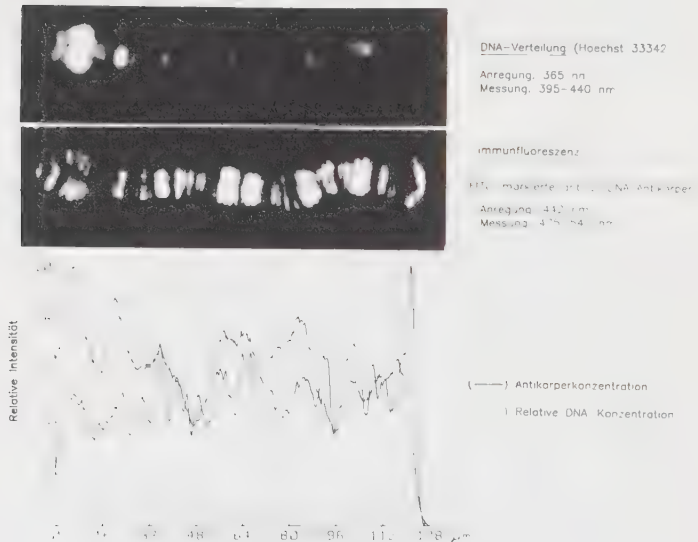


Abb. 6.2: Fluoreszenzabbildung und Scanprofile telomerer Bereiche von *Chironomus* Riesenchromosomen. Man erkennt die ausgeprägte Bandenstruktur und eine sehr starke Immunfluoreszenz einzelner Banden. In diesen Bereichen liegt eine linksdrehende Helixstruktur der DNA vor.

Neben diesen Anwendungen sind Verbesserungen bei allen Meßverfahren zu erwarten, die eine intensitätsreiche Anregung der Probe erfordern. Wie in Abb. 6.3 dargestellt ist, können aufgrund der Vielzahl von Wechselwirkungen

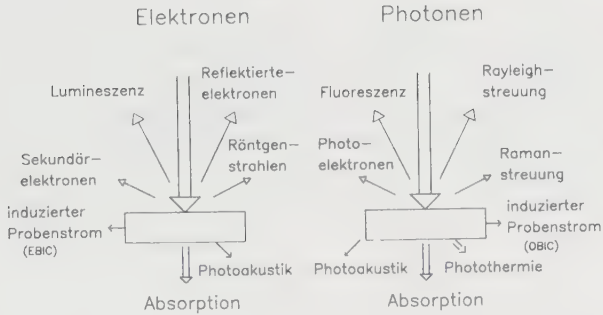


Abb. 6.3: Vergleich der für analytische Aussagen verwendbaren Sekundärsignale im Elektronen- und Lichtmikroskop.

der Photonen mit Materie eine Reihe verschiedener Meßsignale für analytische Aussagen herangezogen werden. Die analytischen Möglichkeiten bei der Anregung mit Photonen oder Elektronen sind in etwa vergleichbar. Im Gegensatz zur Röntgenmikroanalyse liefert die Raman-spektroskopie keine Aussagen über die in einer Probe vorhandenen Elemente, sondern, wie die bisherigen Ausführungen gezeigt haben, detaillierte Angaben über die molekulare Struktur und Zusammensetzung.

Eine besondere Bedeutung dürfte in Zukunft das Gebiet der Photoakustik und Photothermie erlangen, da diese Verfahren auch Aussagen über Probenbereiche liefern, die weit unterhalb der Eindringtiefe von Photonen in opaken Materialien liegen /62,63/. Ein punktübertragendes Meßsystem in Verbindung mit einer sequentiellen Probenabtastung und Bilderzeugung ist auch bei diesen Verfahren von besonderem Vorteil.

Dies gilt auch für das Gebiet der Photoelektronenmikroskopie. Dieses Verfahren wurde bisher überwiegend für die Untersuchung von Metalloberflächen eingesetzt. Verschiedene aktuelle Anwendungsbeispiele zeigen jedoch /64/, daß auch hier in Zukunft durch die Verwendung von UV-Lasern mit einer Erweiterung des Anwendungsbereiches zu rechnen ist.

7. Zusammenfassung

Bei einem langfristigen Einsatz polymerer Implantatwerkstoffe im kardiovaskulären System und im Bewegungsapparat werden durch Wechselwirkungen mit der Umgebung die Eigenschaften und Oberflächen der verwendeten Materialien teilweise verändert. Es wurde gezeigt, daß zur Aufklärung und Beurteilung derartiger Vorgänge die Ramanspektroskopie mit großem Erfolg eingesetzt werden kann. Dies ist einerseits auf die hohe Aussagekraft und Spezifität des Verfahrens, andererseits auf die hohe Empfindlichkeit und örtliche Auflösung des entwickelten Meßsystems zurückzuführen.

Die Untersuchungen ergaben, daß die experimentelle Nachweisgrenze der Ramanmikroanalyse von Festkörpern bei einer kontinuierlichen Bestrahlung der Probe im Bereich von 1 - 5 Pikogramm liegt. Diese Empfindlichkeit ist bei einer Vielzahl von Anwendungen erreichbar, falls Störeinflüsse aus der Probe selbst, wie etwa eine starke Fluoreszenz, durch geeignete Maßnahmen reduziert werden. Dies gelingt durch die Fokussierung der Anregungsstrahlung mit einer sehr kurzbrennweitigen Linse und der Unterdrückung von Störlicht mit Hilfe einer in der Zwischenbildebene angeordneten Meßblende. Das effektive, zum Signal beitragende Probenvolumen liegt in der Größenordnung von $0,1 - 10 \mu\text{m}^3$.

Das dargestellte mikroanalytische Meßverfahren mit definierter punktförmiger Bestrahlung der Proben besitzt gegenüber den bekannten makroskopischen Verfahren den Vorteil, daß durch eine definierte Wahl des Meßortes der Einfluß von partiellen Verunreinigungen ausgeschaltet werden kann.

Die thermische Belastung der Proben hängt entscheidend vom Absorptionskoeffizienten ab. Bei Dauerbestrahlung und einer Bestrahlungsstärke von 10^5 W/cm^2 ergibt sich für Polymere mit $\alpha = 100 \text{ cm}^{-1}$ eine maximale Temperaturerhöhung in der Größenordnung von 10 K. Ein sequentielles Abtasten benachbarter Probenbereiche bringt keine wesentlichen Vorteile in der Probenbelastung, da aufgrund des schwachen Nutzssignals die Abtastgeschwindigkeit bei einer Auflösung von $1 \text{ }\mu\text{m}$ maximal $100 \text{ }\mu\text{m/s}$ beträgt. Diese Geschwindigkeit liegt weit unterhalb der Geschwindigkeit der Wärmediffusion im Material, so daß im Prinzip immer die Bedingungen einer stationären Probenbestrahlung erfüllt sind.

Infolge der hohen Streulichtunterdrückung des entwickelten Meßsystems sind auch ramanspektroskopische Anwendungen möglich, die bisher als nicht durchführbar erschienen. So konnten ohne Probleme Polarisationsmessungen an Polyurethan vorgenommen werden. Auch eine Darstellung der Verteilung verschiedener Komponenten einer Probe ist durch die Registrierung ausgewählter Schwingungsbanden möglich. Die besten Ergebnisse werden bei einer punkweisen Abtastung der Probe und einer Erfassung der Meßwerte mit einem Bildspeichersystem erhalten. Dies ist darauf zurückzuführen, daß bei diesem Verfahren im Gegensatz zu einer Bestrahlung des gesamten Bildfeldes für jeden Bildpunkt eine hohe Störlichtunterdrückung gewährleistet ist.

Der Einsatz eines Vielkanaldetektors bringt gerade bei dem mikroanalytischen Aufbau große Vorteile, da aufgrund der optischen Verhältnisse eine optimale geometrische Anpassung des Detektorsystems möglich ist. Auch kann bei einer parallelen Registrierung ein Fluoreszenzuntergrund rechnerisch leicht eliminiert werden, da der Verlauf des Spektrums durch das zeitliche Verhalten der Fluoreszenz nicht wesentlich beeinflusst wird. Dies ergibt gegenüber der bisherigen Meßtechnik eine verbesserte Anwendbarkeit des Meßverfahrens.

Untersuchungen von Abbauvorgängen an verschiedenen Polymeren ergaben, daß die Wechselwirkungen zwischen den Molekülketten des im Bereich der Endoprothetik bevorzugt verwendeten Polyethylens bei der mechanischen Bearbeitung und in biologischer Umgebung stark verändert werden. Dies hat zur Folge, daß die durch Kettenbrüche beschädigte Oberfläche des Materials im Laufe der Zeit abgebaut wird.

Auch die Wechselwirkungen zwischen dem als Implantatwerkstoff im kardiovaskulären Bereich eingesetzten und stark umstrittenen Polyäther-Polyurethan Pellethane 2363 und der Umgebung konnten aufgeklärt werden. Aus Messungen des Depolarisationsgrades der Ramanstrahlung folgt, daß das Polyurethan nicht chemisch verändert oder aufgelöst wird, sondern daß unter dem Einfluß einer Wasseraufnahme und Quellung eine Umorientierung der unterschiedlichen und nicht mischbaren Segmente im Material stattfindet. Dies führt zu einer ausgeprägten Spannungsrißbildung, die bei einem hohen Polyätheranteil besonders deutlich zu erkennen ist. Die beobachtete Abnahme der Intensität der CH-Valenzschwingungen deutet darauf hin, daß bei der Rißbildung die Polyätherketten in den Weichsegmenten der Probe bevorzugt aufgetrennt werden. Eine Umorientierung innerhalb des Materials wird bereits ohne eine mechanische Beanspruchung auch bei der als stabil eingeschätzten härteren Komponente des Materials beobachtet. Dies bedeutet, daß bei einem langfristigen Einsatz des Polyurethans generell mit einer Spannungsrißbildung und damit einer Beeinträchtigung der Funktion gerechnet werden muß.

8. Literatur

- /1/ Schaldach, M., Hohmann, D., eds.: Advances in Artificial Hip and Knee Joint Technology, Springer, Berlin, 1976
- /2/ Thull, R.: Implantatwerkstoffe für die Endoprothetik, Schiele & Schön, Berlin, 1978
- /3/ Wilson, E.B., Decius, J.C., Cross, P.C.: Molecular Vibrations, The Theory of Infrared and Raman Vibrational Spectra, McGraw-Hill, New York, 1955
- /4/ Schrader, B.: Infrarot- und Ramanspektrometrie, in Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, 4. Auflage, Band 5, Verlag Chemie, Weinheim, 1980
- /5/ Califano, S.: Vibrational States, J. Wiley & Sons, London, 1970
- /6/ Brandmüller, J., Moser, H.: Einführung in die Raman-spektroskopie, Steinkopff, Darmstadt, 1962
- /7/ Long, D.A.: Raman Spectroscopy, McGraw-Hill, London, 1977
- /8/ Sommerfeld, A.: Atombau und Spektrallinien, Bd. I, Braunschweig, 1951
- /9/ Born, M., Wolf, E.: Principles of Optics, Pergamon Press, London, New York, Paris, Frankfurt, 1965
- /10/ Placzek, G.: Rayleigh-Streuung und Raman-Effekt, in Handbuch der Radiologie, Band VI, Teil II, S. 205, E. Marx, ed., Leipzig, 1934

- /11/ Porto, S.P.S., Giordmaine, J.A., Damen, T.C.,
Phys. Rev. 147, 608 (1966)
- /12/ Clark, R.J.H., Dines, T.J.: Theory of the Resonance
electronic Raman effect, Mol. Phys. 45, 6, 1153 (1982)
- /13/ Nelson, W.H.: Resonance Raman Spectroscopy, Intern. Lab. 3,
12 (1981)
- /14/ Carey, P.R., Schneider, H., Accts. Chem. Res. 11,
122 (1978)
- /15/ Hirschfeld, T., J. Opt. Soc. Am. 63, 467 (1973)
- /16/ Rosasco, G.J.: Raman microprobe spectroscopy, in
Advances in Infrared and Raman Spectroscopy, R.J.H.
Clark and R.E. Hester eds, Vol. 7, London 1980
- /17/ Gardiner, D.J.: Raman Spectrometry, Anal. Chem. 52,
96 R (1980)
- /18/ Gardiner, D.J.: Raman Spectrometry, Anal. Chem. 54,
165 R (1982)
- /19/ Grasselli, J.G., Snavely, M.K.: Applications of Raman
Spectroscopy, Phys. Reports 65, 4, 231 (1980)
- /20/ Albrecht, H.: Untersuchungen zur Anwendung der Raman-
Spektroskopie in der Medizin, Dissertation, Erlangen, 1976
- /21/ Thomas, G.J. Jr.: Raman-Spectroscopy and Virus Research,
Appl. Spectr. 30, 5, 483 (1976)
- /22/ Müller, G., Proc. VI-th Int. Conf. on Raman Spectroscopy,
Vol. 2, 524, Bangalore, G. Heyden, London, 1978

- /23/ Müller, G.: Applied Laser Raman Spectroscopy,
Proc. VII-th summer school on quantum optics, 234,
Wiezyca, Inst. of Physics, Gdańsk, 1980
- /24/ Schrader, B., Meier, W.: DMS-Raman / IR-Atlas
organischer Verbindungen, Verlag Chemie, Weinheim,
1974-1977
- /25/ Hendra, P., in Polymer Spectroscopy, D.O. Hummel,
ed., Verlag Chemie, Weinheim, 1974
- /26/ Shepherd, I.W.: Raman polarization techniques in the
study of macromolecules, in: Advances in Infrared and
Raman Spectroscopy, Vol. 3, Clark, R.J.H., Hester, R.E.,
eds., Heyden, London, 1977
- /27/ Wilson, W.T., Fitchen, D.B., Biopolymers 13, 143 (1974)
- /28/ Brauner, H.: Thromboresistente Polymeroberflächen,
Dissertation, Erlangen, 1976
- /29/ Whiffen, J.D., et al.: Heparin Application to Graphite
Coated Intravascular Prostheses, Surgery 56, 404 (1961)
- /30/ Sawyer, P.N. et al.: Electrochemical Criteria in the
Choice of Materials Used in Vascular Prosthesis, in
Biophysical Mechanisms in Vascular Thrombosis, P.N.
Sawyer, ed., Appleton-Century-Crofts, New York, 1965
- /31/ Elias, H.G.: Makromoleküle, Hüthig & Wepf, Basel,
Heidelberg, 1972
- /32/ Pellethane 2363 Series, Report No. 17, The Donald
S. Gilmore Laboratories, North Haven, CT
- /33/ Casper, L.S., Landon, D.O., Miller, W.V., Reed,
P.R., SPIE 82, 103 (1976)

- /34/ Lidell, H.M.: Computer-aided techniques for the design of multilayer filters, Adam Hilger, Ltd., Bristol, 1981
- /35/ Piller, H., Microscope Photometry, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1977
- /36/ Smith, F.H.: A new incident illumination for polarizing microscopes, Mineral. Mag. 33, 725 (1964)
- /37/ Berek, M., Z. Instrumentenkunde 56, 1 (1936)
- /38/ Dhamelincourt, P.: Developments and applications of the MOLE laser Raman-microprobe, in Microbeam Analysis, D.E. Newbury, ed., San Francisco, 1979
- /39/ Bloom, A.L., Gas Lasers, Wiley, New York, 1968
- /40/ Sanders, D.J.: Temperature distributions produced by scanning Gaussian laser beams, Appl. Opt. 23,30 (1984)
- /41/ Dhamelincourt, P., Thesis, Université de Lille, France, 1979
- /42/ Gall, M.J., Hendra, P.J.: The laser Raman spectrum of polyethylene, Spectrochim. Acta 28 A, 1485 (1972)
- /43/ Müller, G., Weimer, E.: Surface analysis by laser Raman spectroscopy, C.N.R. Conf. on Lasers in Biomedicine and Surgery, Digest, paper no. 1, Florenz, 1979
- /44/ Eyerer, P.: Werkstoffliche Untersuchungen an explantierten Hüftpfannen aus ultrahochmolekularem Polyethylen, Biomed. Technik, 28, 297 (1983)

- /45/ Haas, T.W., Rostoker, W., Galante, J., Chao, E.Y.S.:
Crystallinity in implanted UHMW PE, Proc. 25 th Orthop.
Res. Soc. Trans., 262, San Francisco, 1979
- /46/ Termin, P.: Biostability of urethane cardiac pacing
leads, pacing concept paper No. 4, Medtronic, Inc,
Minneapolis, 1982
- /47/ Sanford, C.F.: Self-inhibition of an AV sequential
demand pulse generator due to polyurethane lead in-
sulation disruption, Pace, 6, 840 (1983)
- /48/ Seligmann, L.: Polyurethane leads, a more positive
view, Stimocoeur Medical, 10,3, 213 (1982)
- /49/ Parins, D.J., McCoy, K.D., Horvath, N.J.: In vivo
degradation of polyurethane: further evidence,
Pace, 5, 302 (1982)
- /50/ Byrd, C.L. et al.: Implant experience with unipolar
polyurethane pacing leads, Pace, 6, 868 (1983)
- /51/ Furman, S.: Polyurethane Leads, Pace 6, 833 (1983)
- /52/ Timmis, G.C., Westveer, D.C., Martin, R., Gordon, S.:
The significance of surface changes on explanted
Polyurethane pacemaker leads, Pace 6, 845 (1983)
- /53/ Gall, M.J., Hendra, P.J., Watson, D.S.: Recording
Raman spectra of polymers, Appl. Spectr. 25,4, 423 (1971)
- /54/ Pande, G.S.: Thermoplastic polyurethanes as insulating
materials for long-life cardiac pacing leads, Pace, 6,
858 (1983)

- /55/ Lemm, W.: Biodegradation von Polyurethanen,
Int. Kolloquium "Polyurethane in der Medizin-Technik",
Stuttgart, 1983
- /56/ Fleischmann, M., Hendra, P.J., McQuillan, A.J.,
Chem. Phys. Lett. 26, 123 (1974)
- /57/ Müller, G.: Private Mitteilungen
- /58/ Moskovits, M., J. Chem. Phys. Lett. 69, 4159 (1978)
- /59/ Creighton, J.A., Blatchford, C.G., Albrecht, M.G.,
J. Chem. Soc. Faraday Trans. II 75, 790 (1970)
- /60/ Kerker, M., Wang, D.S., Chew, H.: Surface enhanced
Raman scattering (SERS) by molecules adsorbed at
spherical particles, Appl. Opt. 19, 4159 (1980)
- /61/ Arndt-Jovin, D.J., Robert-Nicoud, M., Zahrling, D.A.,
Greider, C., Weimer, E., Jovin, T.M.: Left-handed
Z-DNA in bands of acid-fixed polytene chromosomes,
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80, 4344 (1983)
- /62/ Rosencwaig, A.: High-resolution photoacoustic
thermal-wave microscopy, Appl. Phys. Lett. 36, 725 (1980)
- /63/ Busse, G.: Photothermal transmission imaging and
microscopy, Opt. Commun. 36, 441 (1981)
- /64/ Griffith, O.H., Houle, W.A., Kongsli, K.F.: Photo-
electron microscopy and photoelectron quantum yields
of the fluorescent dyes fluorescein and rhodamine,
Ultramicroscopy 12, 299 (1984)
- /65/ Weimer, E., Schaldach, M.: Biodegradation von Poly-
ethylen und Polyäther-Polyurethan, Biomed. Technik,
29, 218 (1984)

Verwendete Symbole

A	Fläche
α	Absorptionskoeffizient
α'	Polarisierbarkeit
α_{ij}	Komponente des Polarisierbarkeitstensors
α_k	Wärmeübergangszahl
α_s	Emissionsgrad
c	Lichtgeschwindigkeit
c_w	spezifische Wärme
d	Schichtdicke
d_{eff}	effektive Streulänge
D	Empfindlichkeit des Detektorsystems
e	Hauptquantenzahl
$\vec{E}$	elektrische Feldstärke
E_0	Bestrahlungsstärke
ϵ	Gesamtemissionsvermögen eines schwarzen Körpers
f	Brennweite
γ^2	Anisotropie der Polarisierbarkeitsänderung
h	Planck-Konstante
I	Intensität
J	Rotationsquantenzahl
J_1	Besselfunktion
k	Wirkungsgrad des Meßsystems
l	Schwingungsquantenzahl
λ	Wellenlänge
λ_w	Wärmeleitfähigkeit
M	Vergrößerung
M_w	Molekulargewicht
n	Molekühlzahldichte
N_A	Avogadro-Konstante
ν	Frequenz
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
$\vec{p}$	elektrisches Dipolmoment

q	Wärmemenge pro Volumen- und Zeiteinheit
q_n	Normalcoordinate
Q	Wärmemenge
$\dot{Q}$	Wärmemenge pro Zeiteinheit
Q_F	Wirkungsgrad für Fluoreszenzemission
r	Radius
ρ	Dichte
ρ_s	Depolarisationsgrad
S	Meßsignal
S_R	Ramansignal
σ	Stefan-Boltzmann Strahlungskonstante
σ_R	Wirkungsquerschnitt für Ramanstreuung pro Molekül
t	Zeit
T	Temperatur
T_m	Transmissionsgrad des Meßsystems
θ	halber Öffnungswinkel (Apertur)
v	Geschwindigkeit
V	Volumen
$\emptyset$	Strahlungsleistung
$\emptyset_A$	absorbierte Strahlungsleistung
$\emptyset_O$	Bestrahlungsleistung
$\emptyset_F$	Fluoreszenzstrahlungsleistung
x	Ortscoordinate
y	Ortscoordinate
z	Ortscoordinate
ω	Radius des Laserstrahls

Herrn Prof. Dr.Ing. M. Schaldach danke ich für die Aufgabenstellung und das große Interesse an dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr.Ing. G. Müller für die Betreuung der Arbeit und für wertvolle Anregungen.

Der Firma Carl Zeiss, insbesondere Herrn Prof. Dr. W. Schmidt als Leiter des Zentralbereichs Forschung, danke ich für die Ermöglichung der außerdienstlichen Fortsetzung der begonnenen Arbeiten.

Herrn Dr. J. Oelichmann bin ich für zahlreiche Diskussionen und Hinweise zur Ramanspektroskopie zu besonderem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

16.11.1950	geboren in Tübingen
1957 - 1961	Volksschule
1961 - 1969	Eugen-Bolz-Gymnasium in Rottenburg/Neckar
14. 6. 1969	Reifeprüfung
1969 - 1971	Wehrdienst
1971 - 1978	Physikstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
27. 1. 1978	Diplomprüfung Diplomarbeit am Institut für Angewandte Physik mit dem Thema: "Welligkeitsmessungen an Hochspannungskaskaden mit dem elektrostatischen Energieanalysator"
1. 9. 1978 bis 31. 3. 1980	Wissenschaftlicher Angestellter am Zentralinstitut für Biomedizinische Technik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
seit 1. 4. 1980	Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Firma Carl Zeiss, Oberkochen

